

**ISOLASI DAN PENGUKURAN AKTIVITAS ENZIM
BROMELIN DARI EKSTRAK KASAR BATANG NANAS
(*Ananas comosus*) BERDASARKAN VARIASI pH**



SKRIPSI

Diajukan untuk Memenuhi Salah Satu Syarat Meraih Gelar Sarjana Sains
Jurusan Biologi pada Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Alauddin Makassar

Oleh
NURHIDAYAH
NIM: 60300109013

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI ALAUDDIN MAKASSAR
2013**

PENGSAHAN SKRIPSI

Skripsi yang berjudul "Isolasi dan Pengukuran Ekstrak Kasar Enzim Bromelin dari Batang Nanas (*Ananas comosus*) Berdasarkan Variasi pH" yang disusun oleh Nurhidayah, NIM: 60300109013, mahasiswa Jurusan Biologi pada Fakultas Sains dan Teknologi UIN Alauddin Makassar, telah diuji dan dipertahankan dalam sidang munaqasyah yang diselenggarakan pada hari Selasa tanggal 11 Juni 2013 bertepatan dengan tanggal 2 Sya'ban 1434 H, dinyatakan telah dapat diterima sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana Sains dalam ilmu Biologi Jurusan Biologi, tanpa (dengan beberapa perbaikan).*

11 Juni 2013 M

Makassar,

2 Sya'ban 1434 H

DEWAN PENGUJI

Ketua	: Dr. Muhammad Khalifah Mustami, M.Pd. (.....)
Sekretaris	: Wasilah, S.T., M.T. (.....)
Munaqisy I	: Fatmawati Nur., S.Si., M.Si. (.....)
Munaqisy II	: Hartono., S.Si., S.Pd., M.Biotech (.....)
Munaqisy III	: Dra. Sohra., M.Ag. (.....)
Pembimbing I	: Masriany., S.Si., M.Si. (.....)
Pembimbing II	: Mashuri Masri., S.Si., M.Kes. (.....)

Diketahui oleh:

Dekan Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Alauddin Makassar

Dr. Muhammd Khalifah Mustami, M.Pd

Nip: 19710412 200003 1 001

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Dengan penuh kesadaran, penyusun yang bertanda tangan di bawah ini menyatakan bahwa skripsi ini benar adalah hasil karya penyusunan sendiri. Jika kemudian hari terbukti bahwa skripsi ini merupakan duplikat, tiruan, plagiat, atau dibuat oleh orang lain, sebagian atau seluruhnya, maka skripsi dan gelar yang diperoleh karenanya batal demi hukum.

Makassar, Juni 2013.

Penyusun

NURHIDAYAH

NIM: 60300109013

MOTTO

وَاسْتَعِينُوا بِالصَّبْرِ وَالصَّلَاةِ وَإِنَّهَا لَكَبِيرَةٌ إِلَّا عَلَى الْخَاشِعِينَ ﴿٤٥﴾

Terjemahnya: "Jadikanlah sabar dan shalat sebagai penolongmu. dan Sesungguhnya yang demikian itu sungguh berat, kecuali bagi orang-orang yang khusyu', (QS. Al Baqarah: 45)

أَقْرَأْ بِاسْمِ رَبِّكَ الَّذِي خَلَقَ ﴿١﴾ خَلَقَ الْإِنْسَانَ مِنْ عَلَقٍ ﴿٢﴾ أَقْرَأْ وَرَبُّكَ الْأَكْرَمُ ﴿٣﴾
الَّذِي عَلَّمَ بِالْقَلَمِ ﴿٤﴾ عَلَّمَ الْإِنْسَانَ مَا لَمْ يَعْلَمْ ﴿٥﴾

Terjemahnya: "Bacalah dengan (menyebut) nama Tuhanmu yang Menciptakan, Dia telah menciptakan manusia dari segumpal darah. Bacalah, dan Tuhanmulah yang Maha pemurah, yang mengajar (manusia) dengan perantaran kalam[1589], Dia mengajar kepada manusia apa yang tidak diketahuinya" (Q.S Al 'Alaq 1-5).

لَا يُكَلِّفُ اللَّهُ نَفْسًا إِلَّا وُسْعَهَا لَهَا مَا كَسَبَتْ وَعَلَيْهَا مَا اكْتَسَبَتْ ﴿٢٨٦﴾

Terjemahnya: "Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya. ia mendapat pahala (dari kebajikan) yang diusahakannya dan ia mendapat siksa (dari kejahatan) yang dikerjakannya, (QS. Al Baqarah: 286)

PERSEMBAHAN

*Dengan Mengucapkan Rasa Syukur Kehadirat Illahi Rabbi
Yang Maha Penolong Lagi Maha Mengabulkan Do'a
Semoga ridha-Nya Selalu Menyertai Setiap Jengkal Langkahku
Sehingga Kesuksesan Dan kebahagiaan
Menjadi Akhir Dari Semua Perjuangan Yang Mesti Kutempuh
Atas Nama Cinta
Kupersembahkan Karya ini untuk.....*

- ❖ Ayahanda tercinta **Ibrahim** dan **Ibunda ST. Hawasah** tercinta yang senantiasa memberikan limpahan kasih sayang yang begitu luar biasa serta dukungan materi serta do'a yang tulus demi kesuksesan serta tercapainya cita-cita penulis.
- ❖ Kakakku tercinta (**k'ijma: k'af: k'hatun: k'ahyar: baba rao**) serta **ama bobo** yang selalu memberiku suntikan dana, semangat dan motivasi serta dukungan moril dalam do'a yang tulus dan kasih sayang yang tak terhingga, serta Pangeran dan Bidadari kecil tercinta (**Akbar, Rian, Lombi, Abi, Bobo, Hersan, Norita, Zihzi, Salsa** dan **Avira**).
- ❖ Keluargaku terutama (alm. **Sita**), **heso, dua di, ome** dan semua sepupu-sepu dan ponakan terutama **Srahlin** dan **Rida**.
- ❖ Sahabat tercinta genk FHAAD (**Fatin, Hairil, Asiah** dan **Atikah**), DIN (**Dara, Nila**) dan D'rainbow (**Husnul, Lulu, Nina, Sam**) serta **Lida, Bia, Rahma, Iin, Ucu, Bab rusu, Jia, Azis** dan **yadin**.
- ❖ Saudaraku seperjuangan **NOCTURNAL** community terutama **Dian, Fathe, Suci** dan **Inha**. Bersama kalian kulalui hari-hariku dengan penuh kasih sayang tiada hadiah yang terindah selain saling memberi semangat dan do'a.

*Almamaterku Tercinta "Kampus Hijau" UIN Alauddin Makassar"
Segenap Civitas Akademika Fakultas SainsTek
Tiada Kata Yang Bisa Terucap Selain Do'a
Semoga Segala Amal Kalian Semua Dibalas Oleh Allah SWT
Amin.....*

KATA PENGANTAR



Dengan mengucapkan syukur Alhamdulillah Rabbil Alamin, segala puji dan puji hanya milik Allah SWT, atas berkat rahmat, taufik dan hidayah-Nya sehingga penyusun mampu menyelesaikan skripsi dengan judul **“ISOLASI DAN PENGUKURAN AKTIVITAS ENZIM BROMELIN DARI EKSTRAK KASAR BATANG NANAS (*Ananas comosus*) BERDASARKAN VARIASI pH”**

Shalawat dan taslim atas junjungan Nabiullah Muhammad SAW, sanak keluarga dan juga para sahabat beliau beserta orang-orang yang mengikuti jejak beliau sampai akhir zaman.

Penyusun menyadari bahwa skripsi ini, adalah usaha maksimal dari penyusun. Dan tentu saja jauh dari kesempurnaan, baik dari segi teknis penyusun maupun pada tataran ruang lingkup pembahasannya. Oleh karena itu segala bentuk koreksi dan kritikan yang sifatnya membangun sangat diharapkan demi kesempurnaan karya ini.

Segala macam rintangan yang melintang dapat diatasi dengan usaha yang keras dan tawakkal. Oleh karena itu dengan rasa hormat, cinta dan kasih sayang penyusun ingin mengucapkan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada :

1. Bapak Prof. DR. H. A. Qadir Gassing HT., M.S., selaku Rektor Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.
2. Bapak Dr. Muh. Khalifah Mustami, M.Pd., selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.

3. Ibu Fatmawati Nur Khalik, S.Si, M.Si., selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar sekaligus penguji I yang telah banyak memberikan masukan baik saran maupun kritik sehingga pembuatan skripsi dapat terselesaikan.
4. Ibu Cut Muthiadin, S.Si, M.Si., selaku Sekertaris Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.
5. Ibu Masriany S.Si., M.Si., selaku pembimbing I serta Bapak Mashuri Masri S.Si., M.Kes., yang telah meluangkan waktunya dan dengan sabar membimbing dan memotivasi penyusun dari awal hingga akhir penyusunan skripsi ini.
6. Bapak Hartono S.Si, S.Pd, M.Biotech., selaku penguji II serta Ibu Dra Sohra, M.Ag selaku penguji III yang telah banyak memberikan masukan baik saran maupun kritik sehingga pembuatan skripsi dapat terselesaikan.
7. Bapak/ Ibu Dosen pengajar beserta staf Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar atas limpahan ilmu kepada penyusun selama menjadi mahasiswi.
8. Kepala Laboratorium beserta Staf dan Laboran Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar yang telah memberikan izin dan membimbing selama penelitian.
9. Sahabat-sahabatku Genk FHAAD (Fatin, Hairil, Atik, Ais), DIN (Dara dan Nila), D’Rainbow (Lulu, Nina, Khusnul, Sam) yang selalu memberikan dukungan moril dalam bentuk do’a serta motivasi yang begitu luar biasa sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
10. Saudaraku **NOCTURNAL** Biologi 09 (Dian, Fathe, Ekky, Suci, Inha, Eda, Linda, Dewi, Widi, Anha, Niar, wahyu dan empat pejantan (Muchlis, Aldy, Ilho, Sardi) yang sudah menjadi teman, sahabat, saudara, sekaligus partner

kerja dalam menyelesaikan skripsi ini. Serta Keluarga besar Biologi yang banyak memberikan inspirasi dan motivasi.

11. Teman-teman di Pondok Ananda (Utha, Eka, Lia, Tina, Husna, Baya, Isa, Masna, Irma, Risma, Cia, Mimi, Nafis dan k'Dini) yang selalu memberi semangat dan motivasi serta do'a.
12. Kepada semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu, penyusun mengucapkan banyak terima kasih.

Akhirnya hanya kepada Allah SWT penyusun berlindung dan bermohon atas segala kesalahan dalam penyusunan, dengan penuh kerendahan hati penyusun mohon kritik yang membangun demi kesempurnaan penulisan skripsi ini. Semoga dalam segala aktivitas penyusunan skripsi ini dapat bernilai ibadah disisi-Nya, Amin.

Makassar, Juni 2013.

Penyusun

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.	i
HALAMAN PENGESAHAN.	ii
HALAMAN PERNYATAAN.....	iii
MOTTO.	iv
PERSEMBAHAN.....	v
KATA PENGANTAR.	vi
DAFTAR ISI.	ix
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
ABSTRAK	xiii
 BAB I PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	4
C. Tujuan Penelitian	4
D. Manfaat Penelitian.....	5
 BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
A. Tanaman Nanas	6
B. Tinjauan Umum Enzim	18
C. Aktivitas Enzim.....	21
D. Enzim Bromelin	30
E. Aktivitas Enzim Bromelin	36
F. Hipotesis	42
 BAB III METODOLOGI PENELITIAN	
A. Jenis Penelitian.....	43
B. Variabel Penelitian	43
C. Defenisi Operasional Variabel.....	43
D. Ruang Lingkup Penelitian	43
E. Prosedur Penelitian.....	44
F. Alur Kerja	47

	G. Pengolahan Data.....	48
BAB IV	HASIL DAN PEMBAHASAN	
	A. Hasil Penelitian	49
	B. Pembahasan	51
BAB V	PENUTUP	
	A. Kesimpulan	55
	B. Saran	55
	DAFTAR PUSTAKA	56
	LAMPIRAN-LAMPIRAN.....	61
	DAFTAR RIWAYAT HIDUP	75

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1. Kandungan Gizi Buah Nanas	14
Tabel 2.2. Kandungan Bromelin Di Dalam Tanaman Nanas.....	34
Tabel 4.1. Kadar Protein Enzim Bromelin dari Ekstrak Batang Nanas pada Variasi Konsentrasi Amonium Sulfat	49
Tabel 4.2. Pengukuran Aktivitas Enzim Bromelin dari Ekstrak Batang Nanas pada Variasi pH.....	50

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1. Nanas (<i>Ananas comosus</i>)	13
Gambar 2.2. Model Kunci dan Gembok	27
Gambar 2.3. Model Induced Fit	27
Gambar 2.4. Enzim Bromelin Kasar yang Telah Dikeringkan Menggunakan Oven Vakum	32
Gambar 2.5 Enzim Bromelin Kasar yang Telah Dikeringkan Menggunakan <i>freeze dryer</i>	33
Gambar 2.6 Spektrofotometer	40

ABSTRAK

Nama Penyusun : Nurhidayah
NIM : 60300109013
Judul Skripsi : “Isolasi dan Pengukuran Aktivitas Enzim Bromelin dari Ekstrak Kasar Batang Nanas (*Ananas comosus*) Berdasarkan Variasi pH”

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar protein tertinggi dan aktivitas optimum dari enzim bromelin yang di ekstrak dari batang nanas. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar pada bulan Mei 2013. Variabel dalam penelitian ini adalah isolasi dan pengukuran aktivitas enzim bromelin sebagai variabel bebas sedangkan ekstrak kasar batang nanas berdasarkan variasi pH sebagai variabel terikat. Jenis penelitian ini berupa eksperimen dengan metode bradford untuk penentuan kadar protein enzim bromelin pada variasi konsentrasi amonium sulfat 10-60% untuk pengendapan, serta penentuan aktivitas enzim bromelin pada variasi pH 4,0; 5,0; 6,0; 7,0 dan 8,0, pada suhu 65⁰C dengan waktu inkubasi selama 10 menit. Masing-masing perlakuan dilakukan selama 3 kali pengulangan dan dianalisis secara spektrometri. Hasil penelitian, kadar protein tertinggi pada konsentrasi amonium sulfat 60% yaitu sebesar 37,785 gr/ml. Sedangkan pH optimum aktivitas enzim bromelin yaitu pada pH 6,0 dengan nilai aktivitas 1,021 unit/gram.

Kata kunci : Batang nanas (Ananas comosus), pengendapan amonium sulfat, kadar protein, pH, enzim bromelin.

ABSTRACT

Compiler Name : Nurhidayah
NIM : 60300109013
Title Skripsi : “Isolation and Bromelain Enzyme Activity Measurement of Pineapple stem (*Ananas comosus*) Based pH Variations”

This research aims to determine the highest protein content and the optimum activity of the enzyme bromelain extracted from pineapple stem. This research was conducted at the Laboratory of Microbiology Makassar Alauddin State Islamic University in May 2013. Variable in this study was the isolation and measurement of bromelain enzyme activity as the independent variable while the crude extract of pineapple stem by variations in pH as the dependent variable. The type of this research was experiments with bradford method for determination of protein content enzyme bromelain, with ammonium sulfate concentration variation for precipitation was 10-60%, as well as the determination of the enzyme bromelain activity at variation pH was 4.0; 5.0, 6.0; 7.0 and 8.0, at 65°C temperature with incubation time was 10 minutes. Each stage has done three times in repetition and analyzed spectrometry. The results showed the highest levels of protein precipitation with ammonium sulfate at 60% was 37,785 mg/ml. While the optimum pH of the enzyme bromelain activity at pH 6.0 was 1.021 activity units / gram.

Key Words : Pineapple stem (Ananas comosus), precipitation with ammonium sulfate, protein contents, pH, enzyme bromelain.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Di Indonesia banyak dibudidayakan tanaman nanas karena Indonesia merupakan salah satu negara yang beriklim tropis yang sesuai dengan syarat tumbuh dari tanaman nanas. Nanas merupakan tanaman buah berupa semak, dengan ujung daun dan tepi daun yang berduri dan memiliki tulang daun yang sejajar. Kemudian memiliki kulit yang berwarna hijau kekuning-kuningan, serta daging buah berwarna kuning (Hairi, 2010, 32).

Allah SWT menciptakan buah-buahan di muka bumi ini, baik buah nanas maupun buah-buahan yang lainnya agar manusia selalu berfikir, mencari dan meneliti manfaat dan bahayanya, karena sesungguhnya Allah SWT menciptakan semuanya supaya kita berpikir tentang ciptaan-Nya dan mensyukuri nikmat-Nya, karena itu semua merupakan tanda-tanda kekuasaan Allah (Tafsir Ibnu Katsier; Penerjemah: H. Salim Bahreisy dan H. Said Bahreisy, 2006, 545-546).

Allah SWT berfirman dalam Q.S. An-Nahl/16: 11.

يُنَبِّتُ لَكُمْ بِهِ الزَّرْعَ وَالزَّيْتُونَ وَالنَّخِيلَ وَالْأَعْنَابَ وَمِنْ
كُلِّ الثَّمَرَاتِ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً لِّقَوْمٍ يَتَفَكَّرُونَ

Terjemahnya: “Dia menumbuhkan bagi kamu dengan air hujan itu tanam-tanaman: zaitun, korma, anggur dan segala macam buah-buahan. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar ada tanda (kekuasaan Allah) bagi kaum yang memikirkan” (Departemen Agama RI, , 1971, 403).

Maksud dari ayat tersebut yakni Allah SWT menumbuhkan tanaman-tanaman dengan air hujan, baik yang cepat layu sampai dengan yang paling panjang usianya dan paling banyak manfaatnya. Dia menumbuhkan zaitun, salah satu pohon yang paling panjang usianya, demikian juga kurma yang dapat dimakan mentah atau matang, mudah dipetik dan sangat bergizi lagi berkalori tinggi, serta anggur yang dapat dijadikan sebagai makanan yang halal dan minuman yang haram dan dari segala macam atau sebagian buah-buahan selain yang disebut itu. Sesungguhnya pada yang demikian, yakni pada curahan hujan dan akibat-akibatnya itu benar-benar ada tanda kekuasaan Allah yang Maha Esa. Dan tanda itu berguna bagi orang yang memikirkan.

Ayat di atas menunjukkan buah kurma dengan nama النَّخِيلَ yang digunakan untuk menunjuk pohon dan buahnya secara keseluruhan, berbeda dengan الْأَعْنَبَ yang menunjukkan kepada buah anggur saja. Hal ini menurut al-Biqā'i untuk mengisyaratkan bahwa terdapat banyak sekali manfaat pada pohon kurma, bukan hanya pada buahnya, berbeda dengan anggur yang manfaat selain buahnya sangat sedikit.

Kata مِنْ كُلِّ الثَّمَرَاتِ pada firmanya “dari segala buah-buahan” dipahami oleh al-Biqā'i bermakna *sebagian*. Ini menurutnya karena apa yang berada di dunia ini hanya sebagian dari buah-buahan yang diciptakan Allah. Seluruh buah-buahan yang diciptakan Allah baru akan terhidang di surga nanti. Ibnu ‘Asyur juga memahaminya dalam arti *sebagian* dalam arti buah-buahan yang dikenal pada satu daerah. Memang setiap kaum/wilayah ada buah-buahan khas baginya yang tidak terdapat di lain tempat, sehingga setiap wilayah hanya menemukan sebagian buah-buahan yang ada di dunia ini. Dapat juga dikatakan jika kata مِنْ dipahami dalam arti *sebagian* bahwa itu agaknya mengisyaratkan bahwa ada buah-buahan yang memerlukan curah hujan. Hal ini termasuk buah

nanas yang diciptakan oleh Allah SWT yang hanya dapat tumbuh pada daerah tropis yang dapat dijadikan bahan makanan dan bahan obat-obatan (M. Quraish Shihab, 2007, 198).

Buah nanas yang sudah masak dapat dikonsumsi langsung sebagai buah segar dan yang dikonsumsi adalah bagian dagingnya saja, setelah dikupas kulitnya dan dibersihkan dari duri-durinya yang kemudian dicuci dan diberi garam, karena ada rasa getir dan cairannya yang kadangkala menusuk perut terutama bagi yang sakit lambung (maag) atau dalam bentuk buah-buahan kaleng. Sedangkan pada bagian batang, daun, kulit dan bonggolnya hanya dibuang begitu saja dan bahkan digunakan sebagai pakan ternak (Efendi dan Winarni, 2012, 2).

Menurut Raina (2011), buah nanas mengandung gizi cukup tinggi dan lengkap, seperti protein, lemak, karbohidrat, mineral, dengan kandungan air 90% dan kaya akan kalium, kalsium, iodium, sulfur dan khlor. Selain itu nanas kaya dengan biotin, vitamin B12, vitamin E serta enzim bromelin (Kumaunang dan Kamu, 2011, 1).

Enzim bromelin merupakan enzim yang dapat menghidrolisis ikatan peptida pada kandungan protein menjadi asam amino. Enzim bromelin memiliki sifat yang mirip dengan enzim proteolitik, yakni memiliki kemampuan untuk menghidrolisis protein lainnya, seperti enzim rennin (renat), papain, dan fisin. (Christy, 2012, 1).

Enzim bromelin memiliki manfaat yang sangat banyak bagi kehidupan manusia yaitu dapat mendegradasi kolagen daging, sehingga dapat mengempukan daging (Utami, 2010), kemudian pada pengolahan VCO yaitu enzim bromelin menghidrolisis protein menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana pada santan (Edawati, 2005). Sedangkan pada bidang kesehatan enzim bromelin dapat mengurangi rasa sakit dan pembengkakan karena luka atau operasi, mengurangi

radang sendi, menyembuhkan luka bakar, serta meningkatkan fungsi paru-paru pada penderita infeksi saluran pernapasan (Kumaunang dan Kamu, 2011,1). Selain itu enzim bromelin dapat melarutkan lendir yang sangat kental dalam sistem pencernaan, memecah lemak di usus sehingga membantu membersihkan usus dan saluran pencernaan. Mengurangi tekanan darah tinggi, mengurangi kadar kolesterol darah (membersihkan darah) dan mencegah stroke. Mencuci timbunan protein dan parasit cacing pada dinding usus sehingga dapat dengan mudah dikeluarkan melalui feces. Menghambat pertumbuhan sel kanker dan merangsang serta meningkatkan sistem pertahanan tubuh (Tanti Indrawati, 1992, 170).

Menurut penelitian terdahulu (Wuryanti,2004) Enzim bromelin kasar hasil isolasi dari bonggol nanas mempunyai unit aktivitas 5,373 U/mL, kadar protein 10,299 mg/mL, aktivitas spesifik 0,521 U/mg dan menurut (Wuryanti, 2006) berat molekul 33.500, titik isoelektrik : pH 9,55, pH optimum : 6-8, suhu optimum :50°C, aktivitas spesifik: 5-10 U/mg protein. Sedangkan pada kulit nanas memiliki kandungan enzim bromelin, dengan aktivitas optimum diperoleh pada temperatur 65°C sebesar 0,071 unit/menit dan pada pH 6,5 sebesar 0,101 unit/menit (Kumaunang dan Kamu, 2011, 4).

Menurut Gautam dkk (2010) enzim bromelin yang diisolasi dari buah dan batang nanas memiliki aktivitas yang berbeda. Aktivitas enzim bromelin dari batang lebih tinggi yakni 3,500 GDU/gram sedangkan enzim bromelin dari buah nanas hanya 1,500 GDU/gram. Berdasarkan beberapa hasil penelitian tersebut di atas maka diduga aktivitas enzim bromelin dari batang nanas juga memiliki aktivitas yang lebih tinggi di bandingkan bagian lain pada nanas. Dengan demikian penelitian ini dilakukan untuk

mengetahui aktivitas optimum ekstrak kasar enzim bromelin yang diisolasi dari batang nanas.

B. Rumusan Masalah

1. Berapa kadar ekstrak kasar protein bromelin tertinggi hasil ekstraksi dari batang nanas.?
2. Pada pH berapa aktivitas optimum enzim bromelin yang diekstrak dari batang nanas berdasarkan variasi pH ?

C. Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui kadar protein bromelin tertinggi hasil ekstraksi dari batang nanas.
2. Untuk mengetahui aktivitas pH optimum enzim bromelin yang di ekstrak dari batang nanas.

D. Manfaat Penelitian

1. Sebagai informasi dan referensi mengenai aktivitas enzim bromelin dari bonggol dan batang nanas.
2. Untuk mengurangi limbah pada lingkungan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Nanas (*Ananas comosus*)

Tanaman buah-buahan yang hidup pada daerah tropis seperti nanas memiliki potensi pengembangan yang sebenarnya cukup besar hanya belum dikelola secara professional, terbukti dari produksi total dunia sebanyak 7 830 000 ton per tahun didominasi oleh Negara Thailand (2 000 000 ton), Brazil (572 000 ton), Philipina (479 000 ton), Meksiko (455 000 ton), Pantai Gading (315 000 ton), Malaysia (206 000 ton) dan sisanya adalah diproduksi Negara lain termasuk Indonesia (Ardisela, 2010, 2).

Nanas memiliki banyak kultivar, yang bervariasi dalam ukuran tanaman, buah, warna dan rasa daging buah, serta ada atau tidaknya duri pada daun. Berdasarkan karakteristik daun dan buah, nanas dapat dibedakan menjadi lima kelompok, yaitu: *Spanish* (daun pendek berduri tajam, buah lonjong mirip kerucut), *Queen* (daun pendek berduri tajam, buah lonjong mirip kerucut), *Abacci* (daun panjang berduri kasar, buah silindris atau seperti piramida), *Cayenne* (daun halus tidak berduri, buah segar), dan *Maipure* (buah silinder, warna daging buah putih atau kuning tua, rasa lebih manis daripada *Cayenne*) (Miswar, Sukarmin dan Ihsan, 2012, 1).

Di Indonesia memiliki kebun percobaan balai penelitian tanaman buah, yang mempunyai koleksi beberapa aksesori nanas yang berasal dari eksplorasi di beberapa daerah. Kultivar nanas yang paling banyak ditanam adalah *Cayenne* dan *Queen*. Kultivar *Cayenne* dikenal dengan nama lokal nanas subang dan nanas

minyak (bogor), sedangkan kultivar *Queen* dikenal dengan nama lokal seperti nanas bogor, Palembang, pemalang, dan blitar (Meinarti 2011). Tanaman nanas, walaupun diperbanyak secara vegetatif, banyak dijumpai keragaman karakter yang disebabkan oleh mutasi atau pengaruh lingkungan yang ekstrem (Py *et al.* 1987). Perbedaan penampilan tanaman nanas dapat disebabkan oleh perbedaan genotipe, lingkungan, atau interaksi keduanya (Hadiati, 2003, 157-168).

Tanaman ini dapat tumbuh pada setiap tipe tanah yang drainasenya baik dan agak masam dengan pH antara 5.9 sampai 6.5, serta membutuhkan lingkungan dengan temperatur antara 25°C sampai dengan 30°C. Suatu rotasi tanaman harus dilakukan sekitar beberapa tahun sebelum tanaman nanas ditanam kembali pada tanah yang sama, seandainya rotasi tanaman ini tidak dilaksanakan, gangguan terhadap tanaman dari nematode-nematoda akan merupakan persoalan yang serius. Hanya mungkin untuk menanam nanas pada tanah yang sama dengan memperoleh hasil yang memuaskan apabila tanahnya itu difumigasi terlebih dahulu, yang tujuannya untuk pemberantasan nematode tersebut (Ardisela, 2010, 2-3).

Salah satu usaha untuk meningkatkan produksi nanas adalah melalui pengembangan varietas berdaya hasil tinggi, berkualitas, serta tahan terhadap hama-penyakit. Karakter daya hasil merupakan karakter kompleks yang sangat dipengaruhi oleh karakter pertumbuhan dan karakter komponen hasil. Karakter hasil dan komponen hasil serta karakter pertumbuhan dikendalikan oleh banyak gen yang ekspresinya sangat dipengaruhi oleh faktor lingkungan (Nasution, 2010, 2).

Tanaman nanas sebaiknya ditanam pada awal musim hujan dan ada tiga bagian dari tanaman nanas yang dapat dijadikan sebagai bahan bibit yaitu; puncak atau mahkota buah (*Crown*) adalah bagian puncak buah yang ditumbuhi tunas

daun yang lebat. Jika bagian ini dipakai bibit maka agak lama diperoleh hasil tapi pertumbuhannya seragam. Kemudian *Slip* (bagian yang dapat dicangkok) adalah tunas yang tumbuh pada tangkai buah, terletak berdekatan sekali dengan bagian bawah buah, biasanya tumbuh dengan berdaun lebat hanya kematangan hasilnya tidak merata. Serta *Sucker* adalah tunas yang tumbuh pada bagian batang, pertumbuhan selanjutnya tampak berdaun banyak dan hasilnya agak tinggi akan tetapi kematangannya tidak merata dan dalam peneanaman cukup sukar. Dari ketiga bahan bibit tersebut yang paling bagus ditanam karena pertimbangan umur nanas yang cukup panjang sampai berbuah antara 32 bulan sampai dengan 38 bulan adalah crown karena pertumbuhan dan pembuahannya seragam (Ardisela, 2010, 2).

Tanaman nanas ditanam dengan sistem dua-dua baris, tiap baris pada jarak 60 cm x 60 cm dan jarak antar baris 150 cm. Nanas dapat juga ditanam pada jarak antara 30-40 cm. Semakin rapat jarak tanamnya, buah yang dihasilkan semakin kecil, sehingga membutuhkan jarak yang sedikit jauh agar mendapatkan hasil buah nanas yang lebih besar (Hairi, 2010, 32).

Tanaman nanas umumnya dilakukan pemanenan pertama setelah berumur 18 – 24 bulan, pada waktu itu buah nanas telah menguning pada bagian pangkalnya dan ini berarti telah mencapai kematangan. Pada waktu pemungutan hasil sebaiknya digunakan pisau yang tajam. Nanas untuk ekspor tangkai dipotong sekitar 3 – 4 cm dari pangkal buah, dan membuang daunnya yang tidak perlu agar buah tampak sehat dan segar (Ardisela, 2010, 4).

Tumbuhan nanas memiliki buah yang digolongkan dalam buah sejati majemuk, yaitu buah yang berasal dari suatu bunga majemuk, yang masing-masing bunganya mendukung satu bakal buah, tetapi setelah menjadi buah tetap berkumpul. Sehingga seluruhnya tampak seperti satu buah. Lebih khususnya buah

nanas ini termasuk buah buni majemuk yang merupakan salah satu pembagian dari buah sejati majemuk. Pada buah nanas pembentukan buah ikut pula mengambil bagian daun-daun pelindung dan daun-daun tenda bunga, sehingga keseluruhannya nampak sebagai satu buah saja (Tjitrosoepomo, 2009, 241).

Tumbuhan nanas termasuk tanaman yang hidupnya bersifat tahunan. Tumbuhan buah nanas terdiri dari bagian utama meliputi : akar, batang, daun, bunga dan buah.

a. Akar

Menurut Samson (1980) perakaran nanas dalam tanah tidak lebih dari 50 cm.

b. Batang

Batang nanas pendek, 20-25 cm, diameter bagian bawah lebih kecil (2-3,5 cm) daripada diameter bagian atas (5,5-6,5 cm) dan ruas batangnya pendek. Sebelum berbunga bahan makanan disimpan dalam batang yang kemudian diangkut ke buah. Adakalanya pada batang tumbuh tunas samping, dan tunas samping ini akan tumbuh menjadi cabang. Semua tunas yang tumbuh dari dalam tanah atau tunas anakan (*ratone*), yang tumbuh pada batang (*sucker*) dan tunas yang tumbuh di atas buah atau mahkota dapat digunakan untuk bibit.

c. Daun

Nanas memiliki daun panjang dan sempit, daun tersusun secara spiral pada batang yang pendek sehingga terbentuk roset, jumlah daun yang terbentuk dapat mencapai 70 -80 helai dan tumbuh menggerombol pada batang.. Daun nanas berurat sejajar dari pangkal sampai ujung dan berserabut, tebal, panjangnya antara 38-80 cm dan pada pinggir daun tumbuh duri tajam ke arah ujung daun. Permukaan daun sebelah atas halus mengkilap berwarna hijau tua, merah bergaris, atau coklat kemerah-merahan, sedangkan permukaan daun

bawah berwarna keputih-putihan atau keperak-perakan (Ardisela, 2010, 3).

Dari daun tersebut dapat dibuat serat untuk bahan tekstil.

d. Bunga

Bunga nanas bersifat inflorescente, tumbuh dari titik tumbuh batang (pusat kanopi) tanaman. Bunga tersebut muncul sekitar 450 hari sesudah tanam. Tangkai buah pendek dan sekitar 7-15 cm, jumlah bunga 100-200. Bunga-bunga tersebut tumbuh spiral mengelilingi tangkai buah membentuk buah majemuk bersatu kokoh. Bunganya hermaprodit, kelopaknya 3, pendek dan berdaging, mahkotanya 3. Tangkai putik lebih panjang daripada tangkai sari. Bunga mekar pada pagi hari.

e. Buah

Buah nanas bersifat partenokrpi. Buah majemuk merupakan agregasidari sebanyak 100-200 anak buah. Tanaman nenas mempunyai tepung sari ataupun indung embrio fertile, namun inkompatible sendiri dan kebanyakan kultivar adalah kompatible silng dan menghasilkan biji bila disilngkan (Ashari Sumeru, 1995, 15).

Tanaman yang hidup di bumi ini Allah SWT menumbuhkan dengan air hujan, lalu tanaman itu mengalami vegetasi, dan dari vegetasi itu Allah menumbuhkan biji-bijian dan kelopak-kelopak, seperti kelopak gandum, tanaman biji-bijian dan sejenisnya. Kemudian tanaman yang Allah ciptakan tampak memiliki kesamaan satu sama lain, tetapi rasa buahnya berbeda. Beberapa ahli tafsir mengatakan kalimat dalam ayat di bawah ini menunjukkan bahwa daun tanaman itu mirip satu sama lain, tetapi buahnya memiliki perbedaan rasa. Lebih tepat bila dikatakan bahwa semua tanaman itu memiliki kesamaa antara satu dengan yang lain dari satu sisi, tetapi berbeda dari sisi yang lain, seperti perbedaan waktu matang, warna, wangi, bentuknya yang kecil dan besar serta

kandungannya (seperti senyawa yang terkandung dalam buah dan batang nanas). Sehingga kita mengerti bahwa ada pencipta yang Maha bijaksana baik dalam penciptaan maupun dalam pengaturannya (Allamah Kamal Faqih dan Tim Ulamah; Penerjemah: Sri Dwi hastiti dan Rudi Mulyono, 2001, 254-255)

Allah SWT berfirman dalam Q.S. Al-An'am /6 : 99.

وَهُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا مَخْرُجًا مِنْهُ حَبًّا مُتَرَاكِبًا وَمِنْ النَّخْلِ مِنْ طَلْعِهَا قِنْوَانٌ دَانِيَةٌ وَجَنَّاتٍ مِنْ أَعْنَابٍ وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَّانَ مُشْتَبِهًا وَغَيْرَ مُتَشَبِهٍ انْظُرُوا إِلَى ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِ إِنَّ فِي ذَٰلِكُمْ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يُؤْمِنُونَ ﴿٩٩﴾

Terjemahnya:”dan Dialah yang menurunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan dengan air itu segala macam tumbuh-tumbuhan Maka Kami keluarkan dari tumbuh-tumbuhan itu tanaman yang menghijau. Kami keluarkan dari tanaman yang menghijau itu butir yang banyak; dan dari mayang korma mengurai tangkai-tangkai yang menjulai, dan kebun-kebun anggur, dan (kami keluarkan pula) zaitun dan delima yang serupa dan yang tidak serupa. perhatikanlah buahnya di waktu pohonnya berbuah dan (perhatikan pulalah) kematangannya. Sesungguhnya pada yang demikian itu ada tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi orang-orang yang beriman. (Departemen Agama RI, 1971, 203).

Maksud dari firman Allah SWT وَهُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً yaitu Allah menurunkan air dari langit sebagai berkah dan rizki bagi hamba-hamba-Nya, untuk menghidupi dan menyirami berbagai makhluk. Selanjutnya

فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا مَّاكْسُودُنْهَا يَإِيتُ
 tanaman-tanaman dan pepohonan yang hijau, dan setelah itu kami menciptakan di
 dalamnya biji-bijian dan buah-buahan yang berupa buah kurma, anggur dan
 zaitun. Selanjutnya *”أَنْظُرُوا إِلَى ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِ”* perhatikanlah
 buahnya pada waktu pohonya berbuah, dan perhatikan pulalah kematangannya”
 Al-Bara’bin Azib, Ibnu Abbas, adh-Dhahhak, ‘Atha’ al-Khurasani, as-Suddi,
 Qatadah dan ulama lainnya mengatakan: Maksudnya pikirkanlah kekuasaan
 Penciptaannya dari tidak ada menjadi ada setelah sebelumnya berupa sebuah kayu
 (pohon), kemudian menjadi anggur, kurma dan lain sebagainya, dari berbagai
 ciptaan Allah berupa berbagai warna, bentuk, rasa dan aroma. Oleh karena itu
 disini Allah berfirman *لَا يَت* “ada tanda-tanda” yaitu sebagai bukti-bukti
 kesempurnaan Penciptanya , hikmah dan rahmatnya bagi orang-orang yang
 beriman (Abdul Ghoffar, 2009, 507-508).

Hubungan ayat di atas dengan penelitian ini yaitu pada tanaman nanas
 memiliki buah yang beraroma khas pada saat matang dan pada batangnya terdapat
 senyawa yang dapat dimanfaatkan oleh manusia yang merupakan nikmat dan
 rahmat sebagai bukti kekuasaan Allah SWT yang perlu kita syukuri.

Berdasarkan kriteria SNI (1992), kualitas buah yang baik mempunyai
 diameter tengah buah 9.2 cm, panjang buah 12.6 cm, bobot buah 678.5 g
 (Ardisela, 2010, 3-4).

Adapun gambar tanaman nanas yaitu:



Gambar 2.I. Penampilan buah nanas (*Ananas comosus*)

Klasifikasi tanaman nanas adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae (tumbuh-tumbuhan)
Divisi : Spermatophyta (tumbuhan berbiji)
Kelas : Angiospermae (berbiji tertutup)
Ordo : Farinosae (Bromeliales)
Famili : Bromeliaceae
Genus : Ananas
Species : *Ananas comosus* (Steenis, 1998).

Buah nanas mengandung gizi yang cukup tinggi seperti terlihat pada table 1 berikut :

Tabel 2.1, Kandungan gizi buah nanas segar tiap 100 gram bahan :

No	Kandungan Gizi	Jumlah
1	Kalori	52,00 Kal
2	Protein	0,40 gr
3	Lemak	0,20 gr
4	Karbohidrat	16,00 gr
5	Posfor	11,00 x 10 ⁻³ gr
6	Zat besi	0,30 x 10 ⁻³ gr
7	Vitamin A	130,00 SI
8	Vitamin B1	0,08 x 10 ⁻³ gr
9	Vitamin C	24,00 x 10 ⁻³ gr
10	Air	85,30 gr
11	bagian dapat dimakan (Bdd)	53,00 %

Sumber : Direktorat Gizi Depkes RI (2004).

Dari Tabel 1 di atas , buah nanas yang dapat dimakan hanya 53 % sehingga ada 47 % yang dibuang sebagai limbah, limbah nanas banyak mengandung sukrosa, glukosa dan nutrisi-nutrisi lainnya sehingga limbah nanas tersebut sangat potensial dimanfaatkan sebagai substrat (sumber karbon) untuk produksi protein sel tunggal (Pawignya, 2011 , 69).

Buah nanas merupakan hasil dari tanaman nanas yang sangat banyak dimanfaatkan oleh kehidupan manusia baik dalam bidang pertanian, bidang pangan dan bidang kesehatan dan dengan memperhatikan secara mendalam, maka akan ditemukan rahasia-rahasia alam seperti kandunagan yang bermanfaat dari tanaman tersebut.

Allah SWT berfirman dalam Q.S. Asy-Syu'ara/26 : 7.

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿٧﴾

Terjemahnya: "Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam-macam tumbuhan baik" (Q.S. Asy-Syu'ara) (Departemen Agama RI, 1971, 572).

Maksud kata (إِلَى) "Ke" pada firman Allah SWT di awal ayat ini "أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ" "apakah mereka tidak melihat ke bumi" merupakan kata yang mengandung makna *batas akhir*. Ia berfungsi memperluas arah pandangan hingga batas akhir, dengan demikian ayat ini mengundang manusia untuk mengarahkan pandangan hingga batas kemampuannya memandang sampai mencakup seantero bumi, dengan aneka tanah dan tumbuhan, serta aneka keajaiban yang terdapat dalam tumbuh-tumbuhan. Dalam hal ini seperti senyawa yang terdapat dalam batang nanas (M. Quraish Sihab, 2004, 11).

Sedangkan kata (زَوْجٍ) *zauj* berarti *pasangan*. Pasangan yang dimaksud ayat ini ialah pasangan tumbuh-tumbuhan, karena tumbuhan muncul di celah-celah tanah yang terhampar di bumi, dengan demikian ayat ini mengisyaratkan bahwa tumbuh-tumbuhan pun memiliki pasangan-pasangan untuk pertumbuhan dan perkembangannya. Ada tumbuhan yang memiliki benang sari dan putik sehingga menyatu dalam diri pasangannya dan dalam penyerbukannya ia tidak membutuhkan pejantan dari bunga lain, dan ada juga yang hanya memiliki salah satunya saja sehingga membutuhkan pasangannya. Yang jelas setiap tumbuhan memiliki pasangan dan itu dapat terlihat kapan saja, bagi siapa yang ingin menggunakan matanya. Karena itu ayat di atas memulai dengan pertanyaan yang mengandung unsur keheranan terhadap mereka yang tidak memfungsikan

matanya untuk melihat bukti yang sangat jelas itu. (M. Quraish Sihab, 2004, 11-12).

Sementara ulama berpendapat bahwa pasangan yang dimaksud termasuk pula binatang dan manusia karena Allah SWT berfirman:



Terjemahnya:” *dan Allah menumbuhkan kamu dari tanah dengan sebaik-baiknya*” (Q.S. Nuh/71:17) ((Departemen Agama RI, 1971, 979).

Kata (كَرِيم) *karim* antara lain digunakan untuk menggambarkan segala sesuatu yang baik bagi setiap objek yang disifatinya. Tumbuhan yang baik, paling tidak adalah subur dan bermanfaat bagi makhluk hidup, termasuk tumbuhan yang dapat digunakan oleh para petani sebagai bibit yang dapat menghasilkan buah yang mempunyai daya jual tinggi, dalam hal ini untuk meningkatkan ekonomi petani. Kemudian dapat dijadikan bahan makanan yang dapat menyehatkan tubuh, karena mengandung gizi yang tinggi (M. Quraish Sihab, 2004, 12).

Buah nanas mengandung vitamin C yang lumayan banyak. Mengenai enzim-enzim untuk metabolisme obat-obatan dalam mikrosom, vitamin C juga mungkin aktif untuk secara normal dan menonaktifkan ekskresi hormon steroid, semua menghemat estrogen. Enzim yang sama dapat mempunyai aktivitas terhadap substrat sintesis yang asing seperti obat-obatan dan karsinogen. Hasil hidrolase lebih larut dalam air sehingga lebih mudah diekskresi dari tubuh melalui urin (Linder, 1992, 168).

Nanas memiliki buah yang rasanya manis dan asam karena mengandung asam sitrat, selain itu buah nanas dapat menaikkan kadar basa darah dan membantu meringankan penyakit edema dengan mengurangi air berlebih di dalam tubuh. Buah nanas mempunyai kandungan asam aspartik yang berfungsi sebagai

asam amino di dalam tubuh, sehingga membantu proses metabolisme tubuh. Selain itu buah nanas mengandung kalsium, magnesium, besi, natrium, kalium, dekstrosa, sukrosa (gula tebu) dan enzim bromelin. (Hairi, 2010, 32).

Buah nanas mempunyai nilai ekonomi yang cukup tinggi, selain dapat dikonsumsi sebagai buah segar juga dapat diolah menjadi berbagai macam makanan dan minuman, seperti selai, buah dalam sirup dan buah kalengan yang dapat menjadi komoditas ekspor. Dari proses pengalengan, limbah yang dihasilkan cukup banyak berupa tangkai, mahkota, dan kelopak buah nanas yang dapat mencapai 30-40%. Limbah pengalengan nanas ini apabila dibuang ke lingkungan akan menimbulkan bau busuk yang dapat mencemari lingkungan disekitarnya. Guna menghindari dampak pencemaran limbah, maka limbah padat pengalengan nenas dapat dipakai sebagai sumber bahan baku produksi bromelin. (Charlena, Girinda dan Rifani, 2005, 1) (Utami, Pudjomartatmo dan Nuhriawangsa, 2011, 2).

B. Tinjauan Umum Enzim

Enzim adalah protein yang mengkatalisis reaksi-reaksi biokimia. Enzim biasanya terdapat dalam sel dengan konsentrasi yang sangat rendah, di mana mereka dapat meningkatkan laju reaksi tanpa mengubah reaksi kesetimbangan, artinya baik laju reaksi maju maupun laju reaksi kembalinya ditingkatkan dengan kelipatan yang sama. Kelipatan ini biasanya disekitar 10^3 sampai 10^{12} . Terdapat lebih dari 2500 reaksi biokimia yang berbeda dengan bantuan enzim spesifik yang sesuai untuk meningkatkan laju reaksinya. Masing-masing enzim dicirikan oleh spesifitasnya untuk substrat (reaktan) yang mirip secara biologis (Kuchel dan Ralston, 2006, 49).

Enzim dikenal pertama kalinya sebagai protein oleh Sumner pada tahun 1926 yang telah berhasil mengisolasi urease dari kara pedang (*jack bean*). Urease

adalah enzim yang dapat menguraikan urea menjadi CO_2 dan NH_3 . Beberapa tahun kemudian Northrop dan Kunitz dapat mengisolasi pepsin, tripsin, kimotripsin. Selanjutnya makin banyak enzim yang telah dapat diisolasi dan telah dapat dibuktikan bahwa enzim tersebut ialah suatu protein (Poedjiadi dan Supriyanti, 1994, 141).

Untuk mengetahui struktur, sifat kimia maupun fisika suatu senyawa yang terdapat dalam bahan alam, diperlukan suatu proses untuk memperoleh senyawa dalam keadaan murni. Langkah awal dalam pemurnian protein ini ialah menentukan bahan alam yang akan diproses. Penentuan ini didasarkan pada kadar protein yang dikandung di dalamnya. Tentu saja dipilih bahan yang mempunyai kadar protein tinggi dan mudah diperoleh. Selanjutnya mengeluarkan protein dari bahan alam tersebut. Misalnya untuk memperoleh protein dari tumbuhan, protein harus dikeluarkan dahulu dari dalam sel-sel tumbuhan tersebut. Pada umumnya hal ini dilakukan dengan jalan memecahkan sel-sel jaringan secara mekanik, misalnya dengan jalan menghancurkan dan melumatkannya dalam suatu alat tertentu. Apabila tumbuhan telah dihancurkan atau dilumat, campuran beberapa jenis protein dapat diperoleh dengan jalan melarutkan dalam air atau pelarut lain. Dalam proses ini suhu dan pH harus dijaga agar tidak merusak protein. Pada suhu 40°C protein mudah terdenaturasi, maka pemurnian protein sering dilakukan pada suhu rendah, yaitu mendekati titik beku pelarut yang digunakan. Bila protein yang diinginkan tahan terhadap panas, campuran protein dapat dipanaskan sebentar untuk mengendapkan protein lain yang tidak diinginkan. Disamping itu protein juga sensitif terhadap asam dan basa dengan konsentrasi tinggi, dan biasanya pemurnian protein dilakukan pada pH mendekati netral dengan menggunakan larutan buffer tertentu (Poedjiadi dan Supriyanti, 1994, 123).

Setelah diperoleh larutan yang mengandung bermacam protein, maka selanjutnya ialah proses fraksionasi, yaitu memisahkan masing-masing protein dalam campuran secara fraksi dengan dua cara yang dapat dilakukan yaitu pengendapan dan kromatografi. Proses pengendapan protein dapat dilakukan dengan menggunakan ammonium sulfat berkonsentrasi tinggi atau larutan jenuh. Beberapa protein berbeda kelarutannya dalam konsentrasi yang berbeda. Cara ini digunakan terutama bila diinginkan satu macam protein saja, sedangkan protein lain tidak diinginkan. Selain dengan garam proses pengendapan protein dapat dilakukan dengan penyesuaian pH titik isoelektrik protein yang diinginkan. Pada titik isoelektrik kelarutan protein berkurang hingga minimum dan protein yang diinginkan mengendap, sedangkan protein yang tidak diinginkan tetap dalam larutan. Seperti asam amino, protein dapat pula dipisahkan dengan cara kromatografi. Kromatografi adsorpsi untuk memurnikan protein dilakukan dengan menggunakan alumina atau kalsium fosfat sebagai adsorben ((Poedjiadi dan Supriyanti, 1994, 124).

Enzim yang terdapat secara alami dalam makanan dapat mengubah susunan makanan tersebut, dalam beberapa kasus perubahan seperti itu dikehendaki, tetapi dalam sebagian besar kasus hal itu tidak dikehendaki, sehingga enzim harus diaktifkan. Penekanan ilmu makanan dalam penelitian enzim berbeda dengan penelitian dalam biokimia. Ilmu makanan terutama menangani reaksi penguraian, hidrolisis dan oksidasi, sedangkan biokimia lebih banyak menangani mekanisme sintesis (Whitaker (1972) telah membuat senarai yang lengkap mengenai pemakaian enzim dalam pemrosesan makanan (Deman, 1997, 438).

Semua enzim murni yang telah diamati sampai saat ini adalah protein dan aktivitas katalitiknya bergantung pada integritas strukturnya sebagai protein.

Sebagai contoh, jika suatu enzim dididihkan dengan asam kuat atau diinkubasi dengan tripsin, yaitu perlakuan yang memotong rantai polipeptida, aktivitas katalitiknya biasanya akan hancur, hal ini memperlihatkan bahwa struktur kerangka primer protein enzim dibutuhkan untuk aktivitasnya. Selanjutnya, jika kita mengubah berlipatnya rantai protein yang khas dari suatu protein enzim utuh oleh panas dan pH yang jauh menyimpang dari keadaan normal, atau dengan senyawa perusak lainnya, aktivitas katalitik enzim juga akan lenyap. Jadi struktur primer, sekunder dan tersier protein enzim penting bagi aktivitas katalitiknya (Lehninger, 2009, 237).

Menurut (Wuryanti, 2004, 83) enzim tersusun dari protein, fungsi katalis dari enzim ini ditentukan oleh bentuk strukturnya. Adapun jenis-jenis struktur protein adalah sebagai berikut:

1. Struktur primer

Struktur primer protein tersusun oleh asam-asam amino yang dihubungkan oleh ikatan peptida.

2. Struktur sekunder

Struktur sekunder merupakan gabungan dari beberapa struktur primer. Bentuk dari struktur sekunder ini bisa berupa α heliks atau β sheet. Struktur sekunder protein distabilkan oleh ikatan hidrogen antara gugus karbonil dengan gugus amida yang berdekatan.

3. Struktur tersier

Struktur tersier merupakan gabungan dari struktur sekunder yang mengalami pelipatan-pelipatan. Struktur ini distabilkan oleh ikatan hidrofob yang disebabkan kemampatan strukturnya.

4. Struktur kwartener

Struktur kwartener merupakan gabungan dari unit-unit protein. Struktur kwartener dapat tersusun oleh unit-unit protein yang sama ataupun oleh unit-unit protein yang berbeda (*Conn, et. al., 1967*).

C. Aktivitas Enzim

Di dalam tubuh tanaman yang hidup terjadi proses-proses yang beraneka warna. Tetapi proses-proses itu pada pokoknya dapat kita bagi menjadi dua golongan, yaitu proses penyusunan (anabolisme) dan proses pembongkaran (katabolisme) yang keduanya merupakan aktivitas hidup yang kita sebut pertukaran zat atau metabolisme. Di dalam proses anabolisme tersusunlah energi di dalam bentuk bahan atau materi, sedangkan di dalam proses katabolisme materi tersebut dibongkar untuk diubah menjadi energi lagi yang perlu untuk menjalankan bermacam-macam aktivitas hidup. Dalam proses-proses penyusunan dan pembongkaran itu kita dapatkan suatu zat yang aktif membantu perubahan-perubahan tersebut. Dengan tiada zat-zat tersebut maka perubahan-perubahan itu akan berlangsung lambat, bahkan kadang-kadang tidak dapat berlangsung sama sekali. Zat tersebut diberikan nama ferment atau enzim, dari kata *in* dan *zyme* yang berarti sesuatu di dalam ragi (*Dwidjoseputro, 1980, 107*).

Peranan enzim-enzim dalam kualitas jaringan tanaman adalah sangat penting. Enzim-enzim ini akan mengadakan perubahan-perubahan setelah buah-buahan dan sayuran dipanen, yaitu sebagai katalis dalam reaksi-reaksi anabolik dan katabolik. Penuaan dari jaringan tumbuhan berhubungan erat dengan timbulnya enzim-enzim hidrolitik, seperti poligalakturonasa, klorofilase, esterase, karbohidrase, DNA-asa dan enzim-enzim oksidatif seperti peroksidasa, katalasa, oksidasa asam amino, lipoksidasa dan fenolasa. Kebanyakan perubahan kimia dalam jaringan berlangsung dengan pertolongan enzim-enzim oksidoreduktasa seperti katalasa dan dehidrogenase. Peroxidasa ini bisa menyebabkan

terjadinya bau lain (*off-flavor*) pada waktu penyimpanan. Enzim-enzim pektolitik bisa menyebabkan perubahan tekstur, menyebabkan lembeknya buah-buahan pada waktu pematangan (Apandi, 1984, 17).

Semua enzim adalah protein. Beberapa mempunyai struktur yang agak sederhana, namun sebagian besar enzim mempunyai struktur yang rumit. Banyak enzim yang strukturnya belum diketahui. Untuk aktivitas biologis, beberapa enzim memerlukan gugus-gugus prostetik atau kovaktor. Kovaktor ini merupakan bagian non protein dari enzim itu. Suatu kovaktor dapat berupa ion logam sederhana, misalnya ion tembaga yang merupakan kovaktor bagi enzim asam askorbat oksidase. Enzim lain mengandung molekul organik non protein sebagai kovaktor. Gugus prostetik organik seringkali dirujuk sebagai suatu koenzim (Fesenden dan Fesenden, 1982, 395-396).

Beberapa enzim mengandung gugus prostetik yang mengikat ion-ion logam, seperti besi dan tembaga pada sitokrom oksidase. Jenis protein lain yakni glikoprotein yang mengandung gula yang berperan dalam aksi enzimatisnya atau melindungi enzim dari suhu ekstrim, bahan perusak internal misalnya protease (Lakitan, 2007, 92-95).

Enzim berperan secara lebih spesifik dalam hal reaksi mana yang akan dipacu dibandingkan dengan katalisator anorganik, sehingga ribuan reaksi dapat berlangsung dengan tidak menghasilkan produk sampingan yang beracun. Di samping berbagai keunggulannya, enzim juga mempunyai kelemahan, antara lain karena enzim adalah protein dengan molekul berukuran besar, sehingga tentu saja sintesisnya membutuhkan energi yang besar pula (Lakitan, 2007, 92-93).

Fungsi utama suatu enzim ialah hambatan energi aktivasi pada suatu reaksi kimiawi. Yang dimaksud dengan reaksi aktivasi ialah jumlah energi yang dibutuhkan untuk membawa suatu substansi ke status reaktifnya. Enzim

bergabung dengan substansinya (substrat) membentuk status transisi yang membutuhkan energi aktivasi lebih kecil untuk berlangsungnya reaksi kimiawi tersebut (Pelczar dan Chan, 1986, 324).

Pada proses dan analisa yang melibatkan enzim, umumnya menggunakan cara bath yaitu mereaksikan substrat dengan enzim yang sudah dilarutkan dalam air, sehingga enzim bercampur dengan substrat (Sarah, 2001; Agustini, 2003). Cara ini memiliki kelemahan karena enzim hanya digunakan sekali pakai. Secara teknis sangat sulit untuk memisahkan enzim dan produk dan mendapatkan kembali enzim yang aktif diakhir reaksi. Umumnya setelah reaksi selesai, enzim diinaktifkan dengan pemanasan, pengubahan pH, atau cara lain yang dapat menyebabkan enzim terdenaturasi (Chibata, 1978) (Ade Amalia, 2010, 2).

Sejumlah besar enzim telah diekstraksi dari sel, dan dengan gabungan teknik fisik dan kimiawi telah diperoleh dalam bentuk murni. Molekul-molekul enzim amatlah efisien dalam mempercepat pengubahan substrat menjadi produk akhir. Sebagaimana telah dikemukakan sebelumnya, satu molekul enzim tunggal dapat melangsungkan perubahan sebanyak 1000 molekul substrat per detik. Tetapi, enzim bersifat tidak stabil. Aktivitasnya dapat berkurang dengan nyata atau hancur oleh berbagai kondisi fisik atau kimiawi. Dalam hal ini terdapat perbedaan besar diantara enzim yang berbeda-beda. Beberapa dapat menjadi titik aktif oleh perubahan-perubahan yang amat di sekitarnya, seperti bila dibiarkan sebentar saja dalam suhu kamar (Pelczar dan Chan, 1986, 320).

Dua ciri yang amat menyolok mengenai enzim yaitu pertama, efisiensi katalitiknya yang tinggi, yang kedua yaitu derajat kekhususannya yang tinggi terhadap substrat. Satu enzim tunggal akan bereaksi dengan hanya satu substrat tunggal, atau dalam beberapa hal dengan gugus kimia tertentu saja pada substrat-substrat yang secara kimiawi sekerabat. Artinya, sel biasanya menghasilkan enzim

yang berbeda untuk setiap senyawa yang harus dikenai proses metabolisme olehnya (Pelczar dan Chan, 1986, 320-321).

Enzim merupakan unit protein fungsional yang berperan mengkatalisis reaksi-reaksi dalam metabolisme sel dan reaksi-reaksi lain dalam tubuh. Spesifikasi enzim terhadap substratnya teramat tinggi dalam mempercepat reaksi kimia tanpa produk samping (Lehninger, 1982).

Jumlah enzim dalam suatu sel, ditentukan secara kuantitatif berdasarkan efek katalisisnya. Untuk penentuan ini perlu diketahui beberapa faktor yaitu: Persamaan reaksi yang dikatalisis oleh enzim tersebut. Dibutuhkan atau tidaknya kofaktor tertentu, seperti ion-ion logam atau koenzim (aktivitas kebanyakan enzim dibantu oleh koenzim, yaitu yang berperan sebagai tempat atau bagian aktif (*reaktive site*) dalam reaksi enzim. Kemudian pengaruh konsentrasi substrat dan kofaktor (Wirahadikusumah 1977, 60-61).

Menurut (Poedjiadi dan Supriyanti, 1994, 158-163) Aktivitas dari enzim dalam mengkatalis reaksi dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya adalah:

1. Konsentrasi enzim

Pada suatu konsentrasi substrat tertentu kecepatan reaksi enzimatis bertambah pada saat bertambahnya konsentrasi enzim.

2. Konsentrasi substrat

Pada saat konsentrasi enzim konstan bertambahnya konsentrasi substrat meningkatkan ke-cepatan reaksi enzimatis. Pada konsentrasi tertentu tidak terjadi peningkatan kecepatan reaksi walau-pun konsentrasi substrat ditambah.

3. Inhibitor

Keberadaan inhibitor akan menurunkan kecepatan reaksi enzimatis. Inhibitor dapat membentuk kom-pleks dengan enzim baik pada sisi aktif enzim maupun

bagian lain dari sisi aktif enzim. Terbentuknya kompleks enzim inhibitor akan menurunkan aktivitas enzim terhadap substratnya.

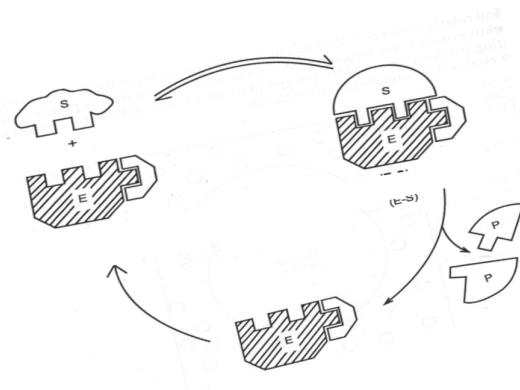
4. Derajat Keasaman (pH)

Struktur enzim dipengaruhi oleh pH lingkungannya. Enzim dapat bermuatan positif, negatif atau bermuatan ganda (zwitter ion). Pengaruh perubahan pH lingkungan berpengaruh pada aktivitas sisi aktif dari enzim.

5. Suhu

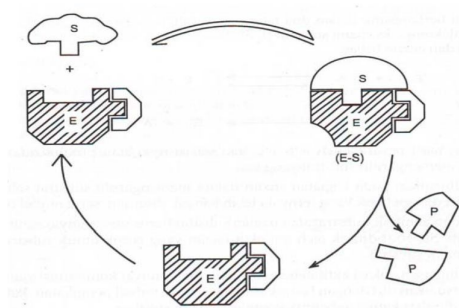
Pada suhu rendah reaksi kimia berlangsung lambat, pada suhu tinggi secara umum reaksi kimia berlangsung cepat. Pada suhu optimum kecepatan reaksi enzimatis adalah maksimum. Pada suhu melewati suhu optimumnya dapat menyebabkan terjadinya denaturasi enzim sehingga menurunkan kecepatan reaksi.

Mekanisme kerja enzim berlangsung dalam dua tahap. Pada tahap pertama, enzim (E) bergabung dengan substrat (S) membentuk kompleks enzim substrat (E-S). tahap kedua, kompleks enzim-substrat terurai menjadi produk dan enzim bebas. Terdapat dua model yang diusulkan pada kegiatan enzim dalam mempengaruhi substrat sehingga diperoleh zat hasil, yaitu model kunci dan anak kunci (*lock and key*) dan model *induced fit*. Pada model kunci dan anak kunci, substrat atau bagian substrat harus mempunyai bentuk yang sangat tepat dengan sisi katalitik enzim. Substrat ditarik oleh sisi katalitik enzim yang cocok untuk substrat tersebut sehingga terbentuk kompleks enzim substrat.



Gambar 2. 2. Model Kunci dan Gembok (Santoso, 2011, 6).

Sedangkan pada model *induced fit*, lokasi aktif beberapa enzim mempunyai konfigurasi yang tidak kaku. Enzim berubah bentuk menyesuaikan diri dengan bentuk substrat setelah terjadi pengikatan. Jadi, tautan yang cocok pada keduanya dapat diinduksi ketika terbentuk kompleks enzim-substrat (Santoso, 2010, 9-10).



Gambar 2. 3. Model Induced Fit (Santoso, 2011, 7).

Kebanyakan enzim tidak menunjukkan kegiatan lagi, jikalau temperatur turun sampai sekitar 0°C , namun enzim-enzim itu tidak binasa. Jika dikembalikan pada temperatur yang biasa, maka kegiatan enzim pulih kembali seperti sebelum mengalami pendinginan sampai titik beku. Sebaliknya akibat pemanasan jauh lebih buruk daripada akibat pendinginan. Temperatur setinggi 40°C tidak dapat menon-aktifkan bahkan mematikan banyak enzim. Akan tetapi kegiatan reaksi yang ditolong oleh enzim-enzim tersebut masih dapat berlangsung, asal saja waktu pemanasan itu tidak terlalu lama (Dwidjoseputro, 1990, 111).

Makin besar perbedaan suhu reaksi dengan suhu optimum, makin rendah laju reaksi. Akan tetapi keadaan yang menyebabkan rendahnya suhu diluar suhu optimum berbeda antara suhu yang lebih rendah dengan suhu yang lebih tinggi. Pada suhu yang lebih rendah, penyebab kurangnya laju enzimatik ialah, kurangnya gerak termodinamik, yang menyebabkan kurangnya tumbukan antara

molekul enzim dengan substrat. Adalah mudah dipahami, jika kontak antara kedua jenis molekul itu tidak terjadi, kompleks ES tidak terbentuk. Padahal kompleks ini sangat penting untuk pengolahan S menjadi P. Oleh karena itu, makin rendah suhu gerak termodinamik tersebut akan makin kurang. Pada daerah suhu yang lebih tinggi, gerak termodinamik akan lebih meningkat, sehingga benturan antar molekul niscaya akan lebih sering. Akan tetapi alih-alih meningkat, laju reaksi malahan menurun dengan cara yang lebih kurang sebanding dengan selisih nilai dan suhu optimum (Sadikin 2002, 138-139).

Dalam peningkatan suhu ini selain gerak termodinamik meningkat, molekul protein enzim juga mengalami denaturasi, karena struktur enzim berubah, maka substrat tidak dapat lagi menyatu dengan enzim dan aktivitas katalitik enzim terhadap substrat tersebut akan hilang, sehingga bangun tiga dimensinya berubah secara bertahap. Makin jauh suhu di atas suhu optimum, makin besar deformasi struktur tiga dimensi tersebut dan makin sukar bagi substrat untuk duduk secara tepat dibagian aktif molekul enzim. Akibatnya, kompleks ES akan sukar terbentuk sehingga produk juga makin sedikit (Sadikin 2002, 138-139). Pada dasarnya enzim yang mengalami denaturasi, masih dapat kembali ke bentuk normalnya dan dapat kembali berfungsi ((Lakitan, 2007, 101-102).

Substrat gelatin mengandung asam amino utama glisin yang merupakan hasil hidrolisis kolagen. Kandungan glisin yang tinggi pada gelatin diduga dapat mengakibatkan gelatin larut dalam air. Asam amino yang terdapat di dalam gelatin merupakan asam amino tidak lengkap, karena tidak adanya asam amino triptofan. Triptofan merupakan satu asam amino esensial yang dibutuhkan oleh tubuh, oleh sebab itu penggunaan gelatin lebih disukai karena sifat fisika-kimianya, bukan karena nilai gizinya. Tetapi gelatin mengandung asam amino yang banyak antara lain: Aspartic, glutamic, serine, histidine, glycine, threonine,

arginine, alanine, tyrosine, methionine, valine, phenylalanine, I-leucine, leucine, lysine, yang menjadi sisi pengenalan atau daerah pemotongan enzim bromelin. Pengukuran nilai pH larutan gelatin penting dilakukan, karena pH larutan gelatin mempengaruhi sifat-sifat gelatin lainnya seperti viskositas, kekuatan gel, dan berpengaruh juga terhadap aplikasi gelatin dalam produk (Junianto, Kiki Haetami dan Ine Maulina, 2006, 38).

Enzim proteolitik tergolong dalam enzim hidrolitik (peptida hidrolase). Enzim ini dipakai dalam produksi keju, bir, pelunakan daging, dan modifikasi sifat-sifat protein sereal dalam pembuatan roti dan produk sereal lain. Reaksi umum yang dikatalisis oleh enzim proteolitik adalah hidrolisis ikatan peptida pada protein. Setiap enzim memiliki spesifisitas substrat yang berbeda-beda. Spesifisitas substrat untuk enzim proteolitik diantaranya adalah: Sifat R1 dan R2. Kebutuhan spesifik terhadap sifat R1 dan/ atau R2 dapat digunakan untuk membedakan enzim proteolitik. Misalnya α - kimotripsin menghidrolisis ikatan peptida dengan cepat hanya jika R1 merupakan rantai sisi berupa residu tirosil, fenilalanil, atau triptofanil. Sedangkan pepsin dan karboksipetidase mempunyai spesifisitas dihubungkan dengan sifat rantai sisi R2. Kedua enzim ini menghidrolisis ikatan peptida dengan kecepatan maksimum, jika R2 merupakan rantai sisi berupa residu fenilalanil. Spesifisitas enzim proteolitik juga harus dikontribusi oleh konfigurasi asam amino, yaitu dalam konfigurasi-L. Kadang-kadang residu asam amino-D berikatan pada sisi aktif, tetapi ikatan peptida tidak terhidrolisis (Teti Estiasih dkk., 2012, 49).

Aktivitas enzim dapat diatur melalui dua cara yaitu, pertama pengendalian katalisis secara langsung dan yang kedua pengendalian genetik. Pengendalian langsung kegiatan enzim dapat berupa pengendalian melalui penggandengan mekanisme katalitik dengan proses-proses lain.

Sedangkan pengendalian genetik mencakup fenomena induksi dan represi enzim (Pelczar dan Chan, 1986, 332).

D. Enzim Bromelin

Sisi aktif enzim protease berdasarkan sifat kimianya terbagi menjadi beberapa jenis yaitu protease serin, protease logam, protease asam dan protease sulfhidril, (Winarno, 1986). Kebanyakan enzim protease sulfhidril berasal dari tumbuhan dan dipakai secara luas dalam industri makanan. Protease sulfhidril yang berasal dari hewan hanya dua katepsin, yang terdapat dalam jaringan sebagai enzim intrasel. Enzim yang terpenting dalam golongan ini ialah papain, fisin dan bromelin. Papain adalah enzim yang terdapat dalam buah, daun dan batang pohon pepaya (*Carica papaya*). Enzim ini diperoleh dengan pemurnian eksudat dari buah pepaya tua tetapi belum masak dan enzim bromelin berasal dari pohon nanas. Pemurnian melibatkan penggunaan kromatografi afinitas pada kolom yang mengandung inhibitor (Liener 1974). Proses ini mengakibatkan pengaktifan penuh enzim, yang kemudian mengandung 1 mol sulfhidril per mol protein. Papain kasar tidak aktif penuh dan hanya mengandung 0,5 mol sulfhidril per mol protein (Demman, 1997, 467).

Bromelin adalah enzim yang diperoleh dari sari atau batang buah nanas (*Ananas comosus*) dan banyak digunakan dalam proses pembuatan bir, karena dapat menghidrolisis habis protein menjadi bagian-bagian yang larut, sehingga tidak dapat keruh. Baik buah nanas yang muda maupun yang tua mengandung bromelin. Bahkan keaktifan bromelin pada kasein dari buah yang lebih muda lebih tinggi bila dibanding buah yang lebih tua. Enzim bromelin dapat diperoleh dengan cara mengempa batang tanaman nanas dan diendapkan sarinya dengan aseton. Seperti papain, bromelin tergolong kelompok enzim protease sulfhidril.

Bedanya dengan papain, enzim bromelin merupakan glukoprotein sedangkan papain merupakan protein (F.G Winarno, 1995) (Edahwati, ,12-1).

Enzim bromelin mudah di dapat karena buah nanas dapat berbuah sepanjang tahun dan tersebar di seluruh Indonesia dan pada nanas diperoleh dari tangkai, kulit, daun, buah, batang tanaman nanas, maupun bonggol atau bagian tengah buah nanas dalam jumlah yang berbeda. Kandungan enzim bromelin tertinggi terdapat pada bagian daging buah masak, yaitu 0,080-0,125 %. Untuk mendapatkannya dari buah nanas diperlukan proses isolasi enzim bromelin. Pada tahap akhir, enzim bromelin dilakukan proses pengeringan. Enzim bromelin merupakan enzim yang akan rusak pada suhu 60–70°C, sehingga diperlukan perlakuan pada tahap pengeringan agar enzim bromelin tidak mengalami kerusakan. Misalnya dengan menggunakan oven vakum atau *freeze drying* (pengering beku) (Ishak, 2012, 1).

Pengeringan dengan oven vacum menggunakan wadah cawan petri atau cawan datar. Pengeringan dengan alat ini dilakukan selama 2 jam dengan suhu 40°C dan tekanan -76 cmHg. Kelebihan penggunaan alat pengering ini adalah pengaturan waktu, suhu dan tekanan yang sesuai sehingga tidak menyebabkan enzim menjadi rusak, suhu optimum enzim bromelin adalah 50°C – 80°C. Suhu optimum enzim merupakan suhu dimana enzim menjadi aktif dan kemudian rusak jika melewati batas suhu tersebut. Waktu pengeringan yang relatif singkat juga merupakan kelebihan alat pengering ini, dikarenakan tekanan hampa udara dalam ruang oven yang menyebabkan enzim cepat mengering (Ishak, 2012, 32).



Gambar 2.4. Enzim Bromelin Kasar yang Telah Dikeringkan Menggunakan Oven Vakum (Ishak, 2012, 32).

Pengeringan dengan *freeze dryer* atau pengering beku memiliki prinsip pengeringan yang berbeda dengan oven vakum. Pada oven vakum menggunakan suhu panas dan dibantu oleh tekanan vakum untuk penguapan air, sedangkan pada *freeze dryer* menggunakan prinsip suhu dingin untuk penyubliman air. Suhu pengeringannya bisa mencapai -50°C . Penggunaan suhu rendah merupakan kelebihan penggunaan alat pengering *freeze dryer*, karena suhu pengeringan yang digunakan tidak akan merusak enzim. Namun waktu pengeringan yang mencapai 6 – 10 jam menjadi salah satu kekurangan alat ini. Kondisi tekanan vakum dalam ruang alat ini tidak mencapai tekanan maksimum vakum seperti pada alat oven vakum, sehingga butuh waktu yang cukup lama untuk menarik keluar air yang tersublimasi yang terdapat pada enzim.

Kekurangan lain dari penggunaan alat pengering jenis ini adalah penggunaan daya yang cukup besar dibandingkan penggunaan pengering oven vakum. Sampel atau enzim sebelum dimasukkan ke dalam *freeze dryer* harus dipastikan dalam kondisi beku. Hal ini sesuai dengan prinsip kerja *freeze dryer* yang mengubah zat padat menjadi cair (sublimasi), kemudian menjadi padat kembali, sehingga diperlukan *freezer* yang akan menjaga sampel tetap dalam kondisi beku, sedangkan pada penggunaan oven vakum enzim dapat dimasukkan langsung dalam kondisi enzim seperti setelah diekstrak.



Gambar 2.5. Enzim Bromelain Kasar yang Telah Dikeringkan Menggunakan *freeze dryer* (Ishak, 2012, 32).

Kenampakan dari segi warna dari enzim bromelain kasar yang dihasilkan dari kedua jenis pengeringan ini juga berbeda. Enzim bromelain kasar yang dikeringkan dengan oven vakum memiliki warna yang umumnya masih kuning cerah seperti buah nanas. Kenampakan enzim bromelain dari hasil pengeringan dengan menggunakan *freeze dryer* ini, umumnya tampak berwarna putih atau pucat. Penyebab mengapa enzim bromelain dengan pengeringan menggunakan *freeze dryer* ini menghasilkan warna yang lebih pucat dibanding dengan yang menggunakan oven vakum adalah prinsip kerja alat yang berbeda. *Freeze dryer* menarik komponen-komponen dari ekstrak nanas yang akan dikeringkan, termasuk air yang terikat secara fisik juga ikut tertarik. Berbeda dengan oven

vakum yang menguapkan komponen, jadi hanya air bebas yang mempunyai peluang besar untuk menguap dibanding air yang terikat secara fisik dan kimia (Ishak, 2012, 33).

Menurut Ferdiansyah (2005), Bahwa adapun kandungan enzim bromelin pada tanaman nanas dapat di lihat pada Tabel 02.

Tabel 2.2. Kandungan bromelin di dalam tanaman nanas (persen)

No	Bagian Buah	Persentase
1	Buah utuh masak	0,060 – 0,080
2	Daging buah masak	0,080 – 0,125
3	Kulit buah	0,050 – 0,075
4	Tangkai	0,040 – 0,060
5	Batang	0,100 – 0,600
6	Buah utuh mentah	0,040 – 0,060

Sumber : Ferdiansyah (2005)

Bromelin merupakan unsur pokok dari nanas yang penting dan berguna. Fungsi bromelin mirip dengan papain dan fisin, sebagai pemecah protein. Pada akhir-akhir ini enzim bromelin lebih banyak digunakan untuk penjernihan bir (“chillpoofing bir”) dan pengempukan daging. Selain itu enzim bromelin sering pula dimanfaatkan sebagai bahan kontrasepsi KB untuk memperjarang kehamilan. Ibu-ibu yang sedang mengandung tidak dianjurkan makan buah nenas karena dapat mengakibatkan keguguran. Kegunaan lain dari bromelin adalah untuk memperlancar pencernaan protein, menyembuhkan artritis, sembelit, infeksi saluran pernafasan, luka atletik (pada kaki) dan trauma (Harianto, 1996, 85).

Dalam kehidupan manusia enzim bromelin memiliki banyak kegunaan dalam berbagai bidang dan salah satunya adalah bidang kesehatan dan farmasi.

Pada bidang ini enzim bromelin dapat dijadikan sebagai obat yang dapat mengurangi rasa sakit dan pembengkakan karena luka atau operasi, mengurangi radang sendi, menyembuhkan luka bakar, serta meningkatkan fungsi paru-paru pada penderita infeksi saluran pernapasan (Kumaunang dan Kamu, 2011,1).

Enzim bromelin (*bromelain*) yang merupakan 95%-campuran protease sistein (Sawano *et al.*, 2008), yang dapat menghidrolisis protein (proteolisis) dan tahan terhadap panas. Potensi bromelin sebagai anti nyeri, anti edema, *debridement* (menghilangkan debris kulit) dan meningkatkan penyerapan antibiotik. Efek antiinflamasi bromelin dapat menurunkan ekspresi mRNA yang mengkode sitokin pro-inflamasi pada leukosit manusia (Onken *et al.*, 2008). Bromelin juga dapat memperbaiki mikrosirkulasi hati (Bahde DKK., 2007, 88-96).

Bromelin dapat pula memodulasi respons imunitas sel T dan sel B serta mengaktifkan makrofag dan sel pembunuh alami (Engwerda *et al.*, 2001). Bromelin memiliki aktivitas fibrinolitik dan antikoagulan (Metzig *et al.*, 1999) serta berpotensi sebagai substansi inhibisi trombosit (Gläser dan Hilberg, 2006). Bromelin efektif sebagai antimetastatik (Maurer, 2001), antileukimia terhadap berbagai tipe dan jenis sel tumor (Baez *et al.*, 2007), antikanker, serta memodulasi kekebalan tubuh, sistem inflamasi, dan homeostasis (Setyawati dan Yulihastuti, 2011, 2).

Obat yang asli Indonesia merupakan obat yang berasal dari tumbuhan, hewan, atau bahan mineral. Pada umumnya obat asli Indonesia belum mempunyai data klinik dan penggunaannya hanya berdasarkan pengalaman. Pengolahan obat asli Indonesia masih sederhana dengan menyeduh bahan tumbuhan kering atau segar dengan air panas, kemudian air seduhan ini diminum. Oleh karena itu bahan obat asli Indonesia perlu distandarisasi, sehingga manfaat dan keamanannya dapat

dipertanggungjawabkan. Dengan demikian tumbuhan obat asli Indonesia dapat dikembangkan menjadi fitofarmaka (Depkes, 1981).(Putra dan Vewawati, 2011, 1).

E. Aktivitas Enzim Bromelin

Sisi aktif dari ezim nanas (Bromelin) ini mengandung gugus sistein dan histidin yang penting untuk aktivitas enzim. Nilai pH optimalnya cukup besar dan berkisar antara 6 – 7,5. Enzim ini bersifat stabil terhadap panas sampai suhu dalam kisaran 60 – 80°C (Kimia Pangan) (Edahwati, 2010, 13).

Aktivitas enzim bromelin dipengaruhi oleh beberapa hal yaitu:

- a. Kematangan buah. Semakin matang buah nenas, maka enzim bromelin dalam buah tersebut semakin berkurang keaktifannya. Hal ini disebabkan pada waktu pematangan buah terjadi pembentukan senyawa tertentu, dalam hal ini enzim mungkin terpakai dalam senyawa tersebut sehingga sebagian struktur enzim akan rusak, akibatnya keaktifan berkurang.
- b. pH, aktivitas optimal dari enzim ini adalah pada derajat keasama (pH) sebesar 5-6, dimana enzim mempunyai aktivitas maksimal, pH terlalu tinggi atau rendah akan mengakibatkan terjadinya beberapa perubahan yaitu denaturasi protein dengan kecepatan katalisa menurun.
- c. Suhu, suhu yang paling baik adalah 50°C, suhu di atas dan di bawah 50°C mengakibatkan keaktifan enzim lebih rendah karena energi kinetik molekul substrat maupun enzim rendah sehingga kecepatan reaksi menjadi rendah.
- d. Konsentrasi dan waktu, konsentrasi enzim yang lebih baik dan waktu yang lebih lama maka kecepatan katalis enzim menurun, karena konsentrasi subtrat efektif untuk tiap molekul enzim. Dengan bertambahnya molekul enzim maka konsentrasi substrat yang tertentu, menyebabkan daya kerja enzim untuk

mengkatalis menjadi lebih lama dan tergantung pula pada konsentrasi yang ada (Tanti Indrawati, 1992, 170).

Bromelin adalah kumpulan enzim protease dalam ekstrak kasar buah nenas yang merupakan satu dari tiga enzim proteolitik (bromelain, papain, dan fisin) yang kadarnya dapat diketahui dari pengukuran aktivitas bromelin terhadap substratnya. Berdasarkan spesifitas proteolitiknya, bromelin digolongkan menjadi endopeptidase karena mengkatalisis reaksi hidrolisis ikatan peptida di bagian tengah rantai peptida (Charlena, Girinda dan Rivani, 2005, 1).

Berdasarkan tinjauan keberadaan gugus bermuatan pada posisi tertentu serta gugus tak bermuatan dan gugus nonpolar yang dapat berkontribusi terhadap spesifitas substrat, bromelin tergolong tiol proteinase karena memiliki residu sistein pada tapak aktifnya. Secara umum, golongan ini diaktivasi oleh senyawa pereduksi seperti sistein, HCN, dan dihambat oleh senyawa pengoksidasi. pH optimumnya adalah pada kisaran netral. Herdyastuti N (2006) melaporkan bahwa aktivitas enzim tertinggi bekerja pada pH 6-7. Saat berada dibawah atau di atas pH tersebut, aktivitas mengalami penurunan. Spesifitas asam amino bromelin adalah cenderung asam amino basa dan aromatik (Charlena, Girinda dan Rivani, 2005, 1).

Banyak senyawa aromatik sederhana yang terdapat dalam tumbuhan mempunyai gugus hidroksil fenol bebas, gugus karboksil atau keduanya. Beberapa senyawa aromatik yang berbobot molekul rendah dapat dimurnikan dengan cara distilasi atau sublimasi pada tekanan atmosfer atau tekanan rendah (Robinson, 1995, 74).

Protein dari tumbuhan (batang nanas) terbentuk dari CO_2 , H_2O dan senyawa nitrogen. Protein dapat dianalisis dengan dua metode yaitu secara kualitatif dan kuantitatif. Kualitatif terdiri atas reaksi Xantoprotein, reaksi

Hopkins-Cole, reaksi Millon, reaksi Nitroprosida, dan reaksi Sakaguchi. Sedangkan secara kuantitatif terdiri dari metode Kjeldahl, metode kromatografi (cara fraksionasi), metode titrasi formol, metode lowry, metode spektrofotometri visible (Biuret), metode spektrofotometri UV, dan metode Bradford (Anna Poedjiadi 1994).

Pengendapan enzim dengan penambahan garam didasarkan pada pengaruh yang berbeda-beda dari konsentrasi garam yang ditambahkan terhadap kelarutan enzim. Pengendapan tersebut dipengaruhi oleh konsentrasi dan jumlah muatan tiap anion dalam larutan. Garam yang paling efektif adalah garam yang memiliki muatan anion ganda seperti sulfat, fosfat dan nitrat. Garam ammonium sulfat paling banyak digunakan untuk pemurnian enzim karena sifat kelarutannya yang tinggi dalam air dan tidak mengganggu bentuk dan fungsi enzim, serta dikarenakan garam tersebut secara komersial banyak tersedia (Rumainah, 2000).

Untuk mengendapkan protein bromelin tanpa ikut mengendapkan protein nonbromelin yaitu menggunakan ammonium sulfat, selain itu ammonium sulfat juga berfungsi menghasilkan peningkatan kemurnian bromelin (Soares *et al.*, 2013, 137).

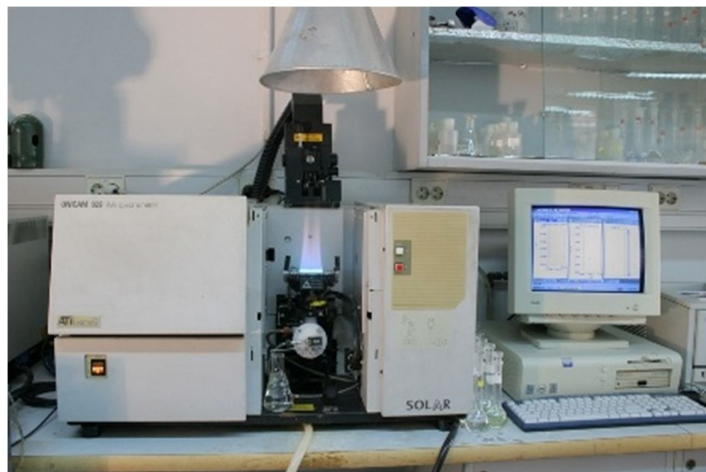
Larutan yang berfungsi mendorong kenaikan aktivitas enzimatis hingga dua kali lipat pada konsentrasi rendah namun tidak memiliki pengaruh pada konsentrasi tinggi yaitu Natrium asetat (Charlena, Aisjah dan Rifani, 2013, 137).

Terbatasnya sensitivitas pengukuran konsentrasi enzim tradisional mengharuskan digunakannya sekelompok besar atau ansambel, molekul enzim untuk menghasilkan produk dalam jumlah yang dapat diukur. Oleh sebab itu data yang diperoleh mencerminkan kemampuan katalitik rata-rata masing-masing molekul. Kemajuan-kemajuan terkini dalam bidang nanoteknologi memungkinkan kita mengamati, biasanya dengan mikroskop fluoresen, katalisis

oleh masing-masing enzim dan molekul substrat. Oleh karena itu para ilmuwan kini dapat mengukur laju proses katalisis tunggal dan kadang-kadang masing-masing tahap dalam katalisis oleh suatu proses yang disebut enzimologi molekul tunggal (*single molecule enzymology*). (Murray, Granner dan Rodwell 2009, 59-60).

Sifat fisikokimia reaktan dalam suatu reaksi yang dikatalisis oleh enzim menentukan jenis pemeriksaan yang dapat digunakan untuk menilai aktivitas enzim. Pemeriksaan spektrofotometriks memanfaatkan kemampuan suatu substrat atau produk untuk menyerap sinar. Koenzim tereduksi NADH dan NADPH yang ditulis sebagai NAD(P)H, menyerap cahaya pada gelombang 340 nm, sedangkan bentuk teroksidasinya NAD(P)⁺ tidak demikian. Jika NAD(P)⁺ tereduksi penyerapan pada 340 nm meningkat sebanding dengan kecepatan yang ditentukan oleh jumlah NAD(P)H yang dihasilkan. Sebaliknya, untuk dehidrogenase yang mengkatalisis oksidasi NAD(P)H akan dijumpai penurunan penyerapan pada 340 nm. Pada masing-masing kasus tersebut laju perubahan dalam densitas optik pada 340 nm akan sebanding dengan jumlah enzim yang ada (Murray, Granner dan Rodwell 2009, 59-60).

Penampilan dari spektrofotometer yaitu:



Gambar 2.6. Spektrofotometer

Spektrofotometer ini merupakan alat analisis yang didasarkan pada absorpsi radiasi elektromagnet. Cahayanya terdiri dari radiasi terhadap kepekaan mata manusia, dengan panjang gelombang berlainan dan akan menimbulkan cahaya yang berlainan pula. Sedangkan campuran cahaya dengan panjang-panjang ini akan menyusun cahaya putih. Panjang gelombang dari sinar putih dapat lebih terseleksi dan ini diperoleh dengan menggunakan alat pengurai seperti prisma, grating atau celah optis. Fungsi utama dari spektrofotometer ini adalah untuk menentukan suatu senyawa baik kuantitatif maupun kualitatif dengan mengukur transmittan atau absorbansi dari suatu cuplikan sebagai fungsi dari konsentrasi (Murray, Granner dan Rodwell 2009, 60)

Spektrofotometer serapan atom memiliki prinsip kerja yaitu larutan sampel diaspirasikan ke suatu nyala dan unsur-unsur di dalam sampel diubah menjadi uap atom sehingga nyala mengandung atom unsur-unsur yang dianalisis. Beberapa di antara atom akan tereksitasi secara termal oleh nyala, tetapi kebanyakan atom tetap tinggal sebagai atom netral dalam keadaan dasar (*ground state*). Atom-atom *ground state* ini kemudian menyerap radiasi yang diberikan oleh sumber radiasi yang terbuat dari unsur-unsur yang bersangkutan. Panjang gelombang yang dihasilkan oleh sumber radiasi adalah sama dengan panjang gelombang yang diabsorpsi oleh atom dalam nyala (Supriyono dan ni'mah, 2012).

Spektrofotometer dapat digunakan untuk mengukur absorbansi pada uji Bradford. Uji Bradford merupakan suatu uji dengan tujuan untuk mengukur konsentrasi protein total secara kolorimetri dalam suatu larutan. Pada uji Bradford melibatkan pewarna *Coomassie Brilliant Blue* (CBB) yang akan berikatan dengan protein dalam suatu larutan. Dari warna yang dihasilkan, secara kolorimetri maka

dapat diukur absorbansinya pada panjang gelombang 465-595 nm (cahaya tampak) (Anam, 2010, 1).

Reagen *Coomassine Brilliant Blue* (CBB) akan bebas berwarna merah-kecoklatan jika berada pada suasana basa. Hal ini dikarenakan *Coomassine Brilliant Blue* (CBB) mengandung residu asam amino dengan rantai samping aromatik (Tyrosine, Tryptophan dan Phenylalanine) atau bersifat basa (Arginine, Histidine dan Leucine) sehingga absorbansi diukur pada λ 465 nm. Namun, reagen *Coomassine Brilliant Blue* (CBB) akan berwarna biru jika berada pada suasana asam (Yisluth, 2013).

Zat warna yang digunakan pada metode Bradford ini dapat dalam bentuk anion dan kation. Bentuk kation zat warna ini ialah *dye commassie* yang berwarna merah dan hijau dengan nilai absorbansi maksimum berada pada panjang gelombang kisaran 470 nm hingga 650 nm. Bentuk anion zat warna ini ialah *commasie* yang berwarna biru dengan nilai absorbansi maksimum berada pada panjang gelombang maksimum 595 nm. Penentuan kadar protein pada suatu larutan dilakukan dengan menentukan jumlah zat warna dalam bentuk anion (reagen *Coomassine Brilliant Blue*) yang diukur dengan panjang gelombang 595 nm (Kadarani, 2013).

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini merupakan penelitian deskriptif yang mengisolasi enzim bromelin dari batang nanas dan mengukur aktivitas enzim bromelin tersebut berdasarkan variasi pH untuk menentukan pH optimumnya.

B. Variabel Penelitian

Penelitian ini terdiri atas dua variabel yaitu isolasi dan pengukuran aktivitas enzim bromelin sebagai variabel bebas dan ekstrak batang nanas (*Ananas comosus*) berdasarkan variasi pH sebagai variabel terikat.

C. Definisi Operasional Penelitian

Enzim bromelin merupakan enzim yang diisolasi dari batang nanas (*Ananas comosus*) yang tua karena mengandung enzim bromelin lebih tinggi. Sedangkan aktivitas enzim bromelin yaitu kemampuan enzim bromelin dalam menghidrolisis substrat gelatin berdasarkan pH optimum enzim bromelin. Dan satu unit aktivitas enzim didefinisikan sebagai jumlah enzim yang dibutuhkan untuk menghidrolisis substrat gelatin per satuan waktu pada kondisi percobaan.

D. Ruang Lingkup dan Batasan Penelitian

1. Ruang lingkup

Sampel yang berupa batang nanas di diperoleh dari kebun masyarakat Samata, Kabupaten Gowa pada bulan Mei 2013. Lokasi penelitian adalah

Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.

2. Batasan Penelitian

Sampel yang digunakan adalah ekstrak batang nanas (*Ananas comosus*) dengan variasi pH 4,0 ; 5,0 ; 6,0 ; 7,0 ; 8,0. serta reaksinya dihentikan dengan pemanasan pada air mendidih selama 10 menit dan Absorbansinya diukur pada λ 595 nm untuk menentukan aktivitas enzim.

E. Prosedur Penelitian

1. Alat dan Bahan

a. Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah pisau, baskom, kertas saring dan saringan, corong, tabung reaksi, rak, tabung, tabung epenndof, gelas kimia, blender (*miyako*), pH meter dan kertas lakmus, mikro pipet, tip, neraca analitik, timbangan, sentrifugasi (*thermo scienfic haraeus labofuge 200 cenrifugasi 63:B5-2-3-16*), kulkas, oven (*memert B5-2-3-12*), hot plate, vorteks, inkubator (*thermo scienfic haraeus incubator B5-2-3-08*) dan Spektrofotometer UV-VIS.

b. Bahan

Bahan yang digunakan yaitu batang nanas, aquadest, natrium asetat 100 ml, amonium sulfat sebanyak 10%, 20%, 30%, 40%, 50% dan 60%, gelatin 0,05 ml, reagen bradford, etanol 95%, dan asam fosfor 85%, NaOH dan HCl.

2. Pembuatan Ekstrak Kasar Batang Nanas

Batang nanas yang digunakan adalah batang yang berasal dari buah nanas yang mengkal, ditandai dengan warna kulitnya hijau kekuningan. Batang nanas dicuci dengan aquadest kemudian ditimbang sebanyak 750 gram. Selanjutnya

dihomogenisasi dengan menggunakan 100 mL larutan buffer natrium asetat yang berfungsi untuk mengontrol pH (6,5) agar selalu dalam keadaan asam dan disaring. Ekstrak kasar disentrifugasi selama 25 menit pada 3.500 rpm, dan disimpan pada suhu 4°C.

3. Pengendapan dengan Ammonium Sulfat

Penambahan ammonium sulfat berfungsi untuk mempresipitasi ekstrak kasar enzim bromelin, dengan konsentrasi masing-masing 10%, 20%, 30%, 40%, 50% dan 60%, sambil diaduk menggunakan pengaduk magnet atau di vorteks selama 45 menit, dan di inkubasi semalam di dalam kulkas. Selanjutnya, disentrifugasi pada 3500 rpm selama 25 menit. Endapan yang dihasilkan dicuci dengan 10 mL buffer natrium asetat 0,1 M pada kisaran pH 6 - 6,5 dan dilakukan sebanyak 3 kali ulangan.

4. Penentuan Kadar Protein Ekstrak Kasar Enzim Bromelin

- a. Penentuan kadar protein dilakukan dengan menggunakan metode Bradford, yaitu untuk mengukur konsentrasi protein total secara kalorimetri dalam suatu larutan. Dalam uji Bradford melibatkan pewarna Coomassie Brilliant Blue (CBB) yang berikatan dengan protein dalam suatu larutan yang bersifat asam sehingga memberikan warna (kebiruan). Dan absorbansinya diukur pada λ 595 μm . Kadar protein ditentukan dengan membandingkan absorbansi ekstrak kasar enzim bromelin dengan kurva standar gelatin.
- b. Pembuatan larutan standar gelatin yaitu dengan cara menimbang 0,01 g gelatin kemudian dilarutkan dengan 10 ml aquadest steril sehingga diperoleh larutan stok gelatin pada konsentrasi 1000 ppm. Larutan stok pada konsentrasi 1000 ppm diencerkan dengan melarutkan 0,5 ml larutan stok ditambahkan 4,5 ml aquades steril sehingga diperoleh

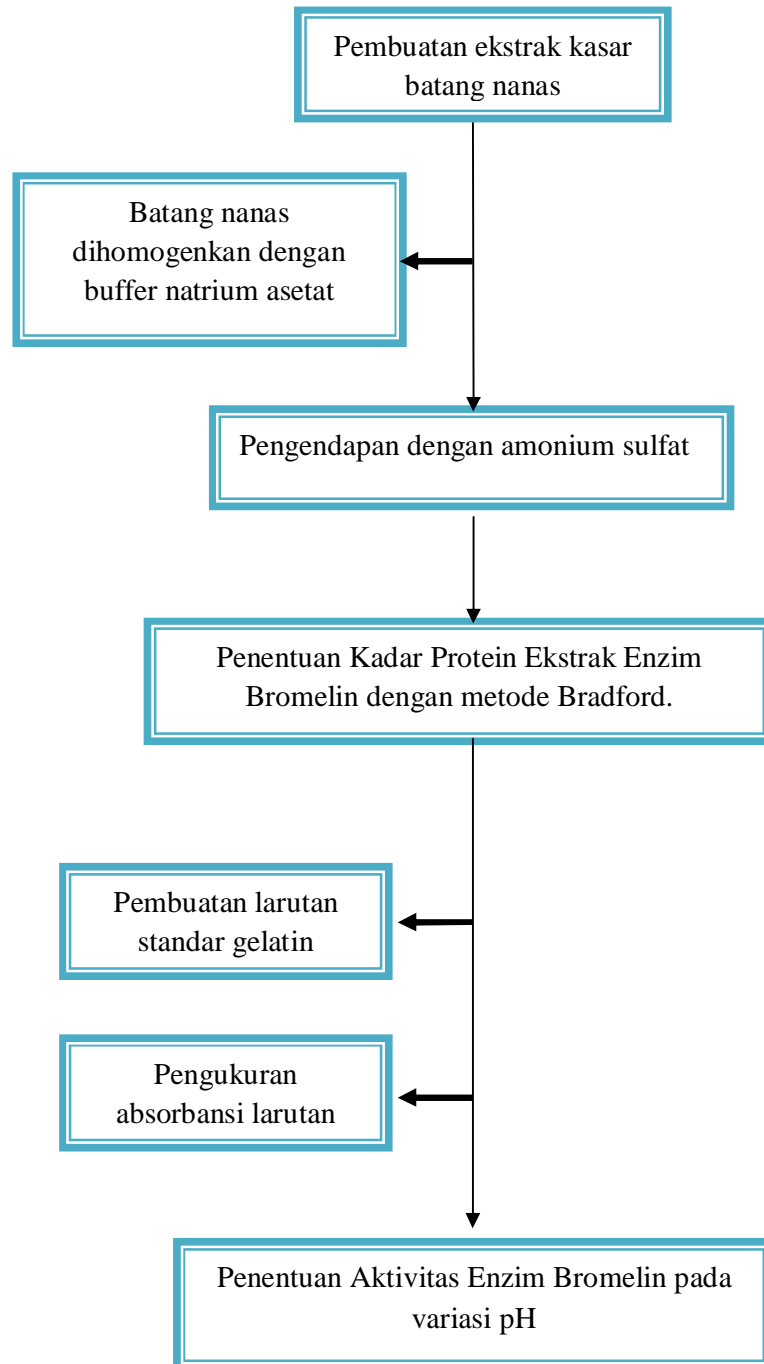
larutan stok gelatin 100 ppm. Dari larutan stok tersebut dilakukan pengukuran terhadap standar protein terlarut dengan konsentrasi 10, 20, 30, 40, 50 dan 60 ppm. Kemudian dilakukan pengukuran terhadap standar protein dengan menambahkan 0,005 ml seri larutan standar dengan 2,5 ml reagen Bradford dan larutan tersebut divortex serta di inkubasi pada suhu ruang selama 10-60 menit. Larutan ini bersifat asam sehingga memberikan warna biru, kemudian selanjutnya diukur absorbansinya pada λ 595 nm.

- c. Pengukuran absorbansi (protein terlarut) pada ekstrak batang nanas yaitu dengan cara 0,5 ml seri ekstrak enzim kasar ditambahkan dengan 2,5 ml reagen Bradford, kemudian divortex lalu di inkubasi pada suhu ruang selama 10-60 menit. Absorbansi Larutan sampel protein selanjutnya diukur absorbansinya pada λ 595 μ m (Bradford *et al.*, 1976).

5. Penentuan Aktivitas Enzim Bromelin dalam hal ini yaitu Penentuan pH Optimum

Sebanyak 0,125 mL gelatin ditambahkan dengan 0,5 mL buffer asam fosfat 1M (pH 6,5) dan 0,125 gram ekstrak kasar enzim bromelin, kemudian diinkubasi pada suhu 65°C selama 10 menit pada berbagai nilai pH pada temperatur optimum yang diperoleh (Kumaunang dan Kamu, 2011). Variasi nilai pH yang digunakan adalah 4,0; 5,0; 6,0; 7,0; 8,0. Reaksi dihentikan dengan pemanasan pada air mendidih selama 10 menit dan dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan serta absorbansinya diukur pada λ 595 nm.

F. Alur Kerja



G. Pengolahan Data

Penentuan kadar protein ditentukan dengan membandingkan absorbansi ekstrak enzim bromelin dengan persamaan linear kurva standar gelatin. Sedangkan aktivitas enzim bromelin dapat ditentukan dengan rumus di bawah ini:
Rumus :

$$\text{Aktivitas Enzim} = \text{Substrat Terhidrolisis} \times \frac{1}{\text{BM Enzim}} \times \frac{\text{Volume Larutan}}{\text{Berat Enzim}}$$

Dimana :

BM Enzim = 181.19 g/mol (Ishak, 2012, 66)

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

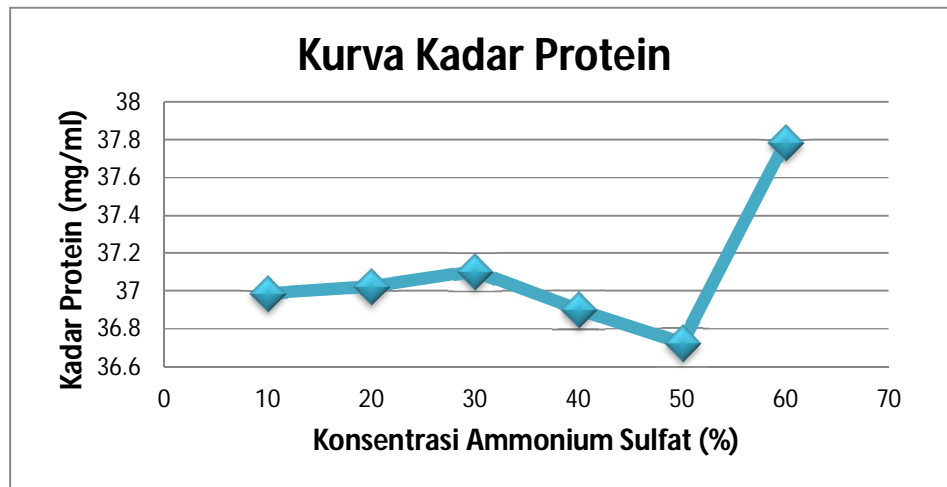
1. Pengukuran Kadar Protein Enzim Bromelin pada Variasi Konsentrasi Ammonium Sulfat

Pengukuran kadar protein enzim bromelin dari ekstrak batang nanas yaitu dengan perlakuan batang nanas yang telah di saring dan ditambahkan larutan ammonium sulfat dengan variasi 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 % dan 60 % kemudian diinkubasi agar enzim bromelin mengendap. Adapun kadar protein yang diperoleh pada pengendapan ammonium sulfat ini dapat dilihat pada tabel berikut

Tabel 4.1. Kadar Protein Enzim Bromelin dari Ekstrak Kasar Batang Nanas pada Variasi Amonium Sulfat.

Konsentrasi (%)	U I (nm)	U II (nm)	U III (nm)	Jumlah (nm)	Rata-rata (nm)	Kadar Protein (mg/ml)
10	0,995	1	1,007	3,002	1,000666667	36,988
20	0,996	1,009	1	3,005	1,001666667	37,023
30	1,016	0,991	1,005	3,012	1,004	37,107
40	0,995	1	1	2,995	0,998333333	36,904
50	0,996	0,995	0,989	2,98	0,993333333	36,726
60	1,016	0,993	1,06	3,069	1,023	37,785

Keterangan: U1 = ulangan 1 U2 = ulangan 2 U3 = ulangan 3



Gambar 4.1. Grafik Pengaruh Konsentrasi Ammonium Sulfat terhadap Pengendapan Protein Enzim Bromelin.

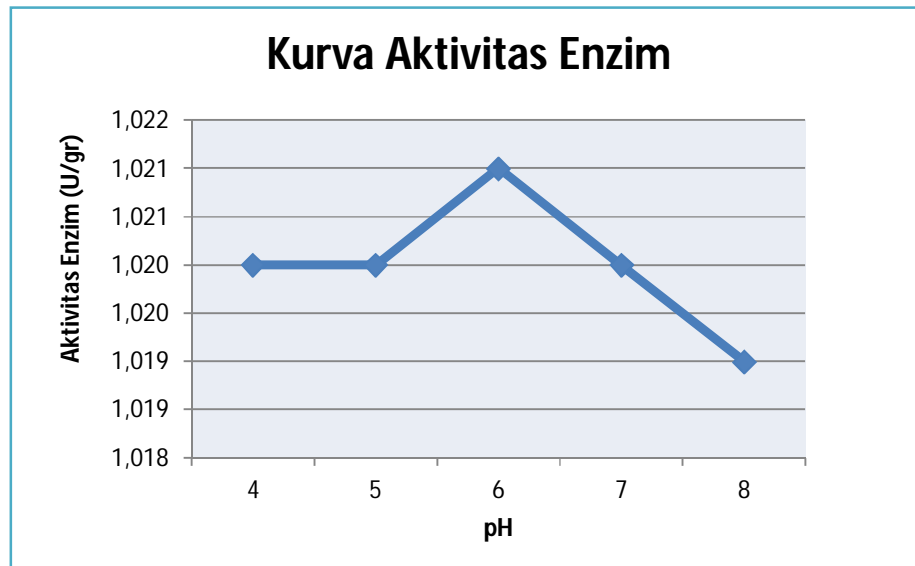
2. Hubungan Antara pH Inkubasi Terhadap Aktivitas Ekstrak Kasar Enzim Bromelin

Aktivitas enzim bromelin dari batang nanas diukur berdasarkan kemampuannya dalam menghidrolisis substrat gelatin. Pengukuran dilakukan secara spektrofotometri pada panjang gelombang 595 nm. Hasil yang diperoleh dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel 4.2. Aktivitas Enzim Bromelin pada Variasi pH.

pH	U I (nm)	U II (nm)	U III (nm)	Rata-rata (nm)	Substrat terhidrolisis (mg/ml)	Aktivitas Enzim (U/gr)
4	1,000	1,001	0,999	1	36,964	1,020
5	1,007	0,996	0,998	10,003,333	36,976	1,020
6	1,004	1,000	1,000	10,013,333	37,011	1,021
7	1,003	1,000	0,999	10,006,667	36,988	1,020
8	1,000	0,999	0,999	0,9993333	36,940	1,019

Keterangan: U1 = ulangan 1 U2 = ulangan 2 U3 = ulangan 3



Gambar 4.3. Grafik Pengaruh Variasi pH terhadap Aktivitas Enzim

B. Pembahasan

Proses isolasi dilakukan untuk mendapatkan ekstrak kasar enzim bromelin. Pada penelitian ini enzim bromelin kasar diisolasi dari batang nanas (*stem bromelin*). Enzim bromelin tergolong dalam kelompok enzim protease sulfhidril yang dapat menghidrolisa protein menghasilkan asam amino sederhana yang larut dalam air. Sisi aktif enzim bromelin ini mengandung gugus sistein dan histidin yang penting untuk aktivitas enzim tersebut. Sehingga enzim ini secara khusus memotong ikatan peptida pada gugus karbonil seperti yang ditemukan dalam arginin atau asam amino aromatik yaitu fenilalanin atau tirosin (Gautam *et al.*, 2010, 75). Enzim bromelin ini menghidrolisis ikatan peptida di bagian tengah rantai peptida, sehingga digolongkan endopeptidase.

Apabila ekstrak kasar enzim bromelin telah diperoleh, maka protein dapat diuji secara kuantitatif dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 595 nm. Digunakan panjang gelombang 595 nm karena pada penentuan panjang gelombang maksimum pada gelatin (*coomassine*) didapat

bahwa panjang gelombang maksimumnya 595 nm (Azmi Azhari, 2010). Dari hasil pembacaan spektrofotometer tersebut diperoleh kurva standar gelatin dengan persamaan regresi $y = 0,028x - 0,035$. Gelatin digunakan sebagai larutan standar, karena gelatin mengandung banyak asam amino yang menjadi sisi pengenalan atau daerah pemotongan enzim bromelin yaitu di antaranya adalah: arginin-arginin dan lysin-tyrosin (Junioanto, Kiki Haetami dan Ine Maulina, 2006).

1. Pengukuran Kadar Protein Enzim Bromelin pada Variasi Amonium Sulfat 10-60 %

Penentuan kadar protein enzim bromelin dilakukan dengan menggunakan metode Bradford dan gelatin sebagai standar. Pada batang nanas memiliki jumlah protein tertinggi dibandingkan bagian yang lain pada tanaman nanas dan termasuk bagian bonggolnya (Gautam, 2010). Pengendapan protein dengan amonium sulfat dapat dilakukan pada konsentrasi 10-100%, tetapi pada konsentrasi 60-100 % pengendapan protein semakin berkurang dikarenakan larutan protein mengalami titik kejenuhan (Soares, *et al.* 2010). Oleh karena itu pada penelitian ini menggunakan konsentrasi 10-60%.

Berdasarkan tabel 4.1 yang menunjukkan bahwa kadar protein tertinggi diperoleh sebanyak 37,785 mg/ml pada konsentrasi 60% amonium sulfat. Sedangkan kadar protein terendah diperoleh pada konsentrasi 50% sebanyak 36,904 mg/ml. Hasil penelitian ini sesuai dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh (Kumaunang dan Kamu, 2010) yaitu kadar protein tertinggi enzim bromelin pada penambahan amonium sulfat 60%, dengan nilai sebanyak 0,039 %. Kadar protein tertinggi diperoleh pada konsentrasi amonium sulfat 60%, karena pada

konsentrasi ini kelarutan protein akan berkurang hingga minimum sehingga protein mengendap.

Pengendapan ini terjadi karena proses persaingan antara garam dan protein untuk mengikat air. Grup ion pada permukaan protein menarik banyak molekul air dan berikatan dengan sangat kuat. Amonium sulfat yang ditambahkan ke dalam larutan protein akan menyebabkan tertariknya molekul air oleh ion garam. Hal tersebut disebabkan ion garam memiliki densitas muatan yang lebih besar dibandingkan protein. Kekuatan ionic garam pada konsentrasi tinggi semakin kuat sehingga garam dapat lebih mengikat molekul air. Menurunnya jumlah air yang terikat pada protein menyebabkan gaya tarik menarik antara molekul protein lebih kuat bila dibandingkan dengan gaya tarik menarik antara molekul protein dan air (mempertinggi interaksi hidrofobik), sehingga protein akan mengendap dari larutan atau berikatan dengan kolom hidrofobik (Muhamad Wirahadikusumah, 2001).

2. Hubungan Antara pH Inkubasi Terhadap Aktivitas Ekstrak Kasar Enzim Bromelin

Perlakuan pH memiliki pengaruh terhadap aktivitas enzim bromelin yang diperoleh. Hal ini terlihat pada Gambar 4.3 yang menunjukkan bahwa kondisi optimum enzim bromelin diperoleh pada pH 6,0 dengan aktivitas 1,021 U/gr dengan substrat terhidrolisis sebesar 37,011 gr/ml yang selanjutnya mengalami penurunan pada pH 7 dan pH 8. Hal ini terjadi karena adanya pengaruh oleh konsentrasi ion H^+ , atau dengan kata lain, derajat keasaman dari pelarut yang mengelilingi protein enzim bromelin. Pada kondisi pH yang tepat, terjadi perubahan gugus ion pada sisi aktif enzim sehingga konformasi enzim lebih efektif dalam mengikat dan mengubah substrat menjadi produk. pH optimum merupakan pH saat gugus pemberi dan penerima proton (ion positif)

yang berperan penting pada sisi katalitik enzim atau pada sisi pengikat substrat berada dalam tingkat ionisasi yang diinginkan, sehingga substrat lebih mudah berinteraksi dengan sisi katalitik enzim (Nielsen *et al.*, (1999).

Aktivitas enzim bromelin dari batang nanas optimum pada pH 6, sedangkan isolat enzim bromelin dari bonggol nanas berdasarkan hasil penelitian (Dian hardiana, 2013) memiliki aktivitas optimum pada pH 7. Dengan demikian diketahui bahwa enzim bromelin dari nanas tetapi dari organ yang berbeda memiliki pH optimum yang berbeda pula. Hal ini sesuai dengan Winarno (1986, 92). Bahwa enzim tertentu mempunyai kisaran pH optimum yang sangat sempit di sekitar pH optimum enzim yang stabilitasnya tinggi. Dalam hal ini enzim yang sama seringkali pH optimumnya berbeda, karena tergantung dari sumber enzim tersebut.

Hasil penelitian ini sesuai dengan hasil penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh (Wuryanti, 2006) dimana pH optimum dari enzim bromelin yaitu berkisar antara pH 6-8. Kemudian menurut (Winarno, 1983) yaitu aktivitas bromelin optimumnya pada pH 6 sampai 7 dimana enzim akan mempunyai konformasi yang mantap dan aktivitas maksimal.

Menurunnya aktivitas enzim pada pH 7 dan pH 8 pada penelitian ini sama dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh (Kumaunang dan Kamu, 2011). Penurunan aktivitas enzim dari pH 7,0 sampai pH 8,0 terjadi karena lingkungan di sekitar sisi aktif enzim mengalami kekurangan jumlah proton. Karena pada pH 7 dan 8 suasana lingkungan disekitar sisi aktif enzim bromelin berada dalam suasana basa, sehingga ion H^+ berkurang. Dimana proton itu sendiri merupakan ion positif yang terdapat pada larutan disekitar enzim bromelin apabila dalam keadaan asam.

Enzim bromelin bersifat hidrolase, yaitu enzim yang bekerja dengan adanya air. Protein mengandung asam amino bersifat hidrofilik, yaitu protein yang residu asam aminonya bersifat menyukai air. Hal ini disebabkan dengan adanya gugus hidrogen pada peptida yang merupakan molekul organik polar, sehingga akan membentuk air dengan adanya gugus OH.

BAB V

PENUTUP

A. Kesimpulan

1. Kadar protein tertinggi hasil ekstraksi dari batang nanas berdasarkan variasi ammonium sulfat yaitu pada konsentrasi 60% dengan kadar protein sebesar 37,785 mg/ml.
2. Aktivitas optimum enzim bromelin yang di ekstrak dari batang nanas yaitu pada pH 6 yang merupakan aktivitas tertinggi dengan aktivitas 1,021 U/gr.

B. Saran

1. Sebaiknya untuk menguji aktivitas enzim bromelin yang diekstrak dari batang nanas menggunakan parameter yang lebih dari satu, agar dapat membandingkan hasil aktivitas dari tiap parameter tersebut.
2. Sebaiknya enzim bromelin yang diperoleh dari batang nanas dilanjutkan dengan pengujian bioremediasi pada limbah protein, seperti limbah dari pabrik tepung.
3. Sebaiknya melakukan penelitian pendahuluan agar mengurangi kesalahan pada saat penelitian atau untuk mendapatkan hasil yang lebih akurat.

DAFTAR PUSTAKA

- Amalia, Ade. *Amobilisasi Bromelin dengan Menggunakan Kitosan Sebagai Matriks Pendukung*. SK-091304: Prosiding Skripsi Semester Genap 2009/2010. (15 Mei 2013).
- Anna, Poedjiadi, Titin Supriyanti. *Dasar-Dasar Biokimia*, Jakarta: Universitas Indonesia Press. 2009.
- Anam, Khairul. *Pengukuran Kadar Protein Dengan Metode Bradford*. Bogor: Institut Pertanian Bogor, 2010.
- Ardisela, Dawud. *Pengaruh Dosis Rootone-F Terhadap Pertumbuhan Crown Tanaman Nenas (Ananas comosus)*. CEFARS : Jurnal Agribisnis dan Pengembangan Wilayah Vol. 1 No. 2, Juli 2010. (18 Januari 2013).
- Apandi, Muchidin. *Teknologi Buah dan Sayur*. Bandung: Alumni, 1984.
- Azhari, azmi. *Penentuan Kadar Protein Dengan Metode Bradford*. Bogor: Institut Pertanian Bogor, 2010.
- Bahde R, Palmes D, Minin E, Stratmann U, Diller R, Haier J, Spiegel HU. 2007. *Bromelain Ameliorates Hepatic Microcirculation after Warm Ischemia. The Journal of Surgical Research* 139(1). (15 Januari 2013).
- Bradford, M. M. *A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding*. *Anal Biochem*. 1976. (20 April 2013).
- Charlena, Aisjah Girinda dan Rifani. *Aktivitas Bromelain Pada Limbah Padat Pengalengan Nenas Dan Pengaruh Semipurifikasi*. Prosiding Seminar Nasional Teknologi Pengelolaan Limbah IX Pusat Teknologi Limbah Radioaktif-BATAN Fakultas Teknik Universitas Sultan Ageng Tirtayasa. 2005. ISSN 1410-6086. (17 Januari 2013).
- Chrysty, Meilty Ishak. *Pengaruh Proses Pengeringan dan Imobilisasi Terhadap Aktivitas dan Kestabilan Enzim Bromelain dari Buah Nenas (Ananas comosus (L) Merr)*. Makassar: Jurusan Teknologi Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Hasanuddin Makassar 2012. (18 Januari 2013).
- David. *Prinsip-Prinsip Biokimia* Edisi Kedua. Penerjemah: Soendoro. Surabaya: Erlangga, 1997.

Deman, John M. *Kimia Makanan* Edisi kedua. Penerjemah: Kasasih Padmawinata. Bandung: ITB, 1997.

Departemen Agama RI, *Alqur'an dan Terjemahannya*. Jakarta: Yayasan Penyelenggara Penerjemah/ Penafsir Al-Qur'an, 1971.

Dwidjoseputro, D. *Pengantar Fisiologi Tumbuhan*. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama, 1990.

Edahwati, Luluk. *Aplikasi Penggunaan Enzym Papain Dan Bromelin Terhadap Perolehan Vco*. Cet. 1. UPN Press, 2011.

Effendi, Arnela Meida, Winarni, Woro Sumarni. *Optimalisasi Penggunaan Enzim Bromelin Dari Sari Bonggol Nanas Dalam Pembuatan Minyak Kelapa. Indonesia Journal Of Chemical Science (1) (2012).* <http://journal.unnes.ac.id/sju/index.php/ijcs>. (11 Januari 2013).

Estiasih, Teti dkk. *Biokimia dan Analisis Pangan*. Malang: Universitas Brawijaya, 2012.

Fessenden, Ralph J dan Joan S. Fessenden. *Kimia Organik* Edisi ketiga Jilid 2. Jakarta: Erlangga, 1982.

Gautam, S.S., Mishra, S., Dash, V., Amit, K. and Rath, G. *Cooperative study or extraction, purification and estimation of bromelain from stem and fruit of pineapple plant. Thai J. Pharm., Sci.* 2010. (20 April 2013).

Hadianti, Sri dan Deden Sukmadjaja. *Keragaman Pola Pita Beberapa Aksesori Nenas Berdasarkan Analisis Isozim*. Juenal Bioteknologi Pertanian, Vol, 7, No. 2, 2002, pp. 62-70. (18 Januari 2013).

Hairi, Muhammad. *Pengaruh Umur Buah Nanas Dan Konsentrasi Ekstrak Kasar Enzim Bromelin Pada Pembuatan Virgin Coconut Oil Dari Buah Kelapa Typical (Cocos nucifera L.)*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains Dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang 2010. (15 Januari 2013).

Hariato, E. *Nanas*. Jakarta: Swadaya, 1996.

Indrawati, Tanti. *Pembuatan Kecap Keong Sawah dengan Menggunakan Enzim Bromelin*. Semarang: Balai Pustaka dan Media Wiyata, 1992.

Irfandi. *Karakterisasi Morfologi Lima Populasi Nanas (Ananas comosus (L.) Merr.)*. Bogor: Institut Pertanian Bogor, 2005. (25 Januari 2013).

Junianto, Kiki Haetami dan Ine Maulina. *Produksi Gelatin dari Tulang Ikan dan Pemanfaatannya Sebagai Bahan Dasar Pembuatan Cangkang Kapsul*. Bandung: Universitas Padjadjaran, 2006.

Kadarani, Deva Krisna. WordPress. Penentuan Protein Metode Bradford. <http://www.kadarani.2013.WordPress.com>. (12 Februari 2013).

Kuchel, Philip W. dan Ralston, Gregory B. *Biokimia*. Jakarta: Erlangga, 2006.

Kumaunang, Maureen dan Vanda Kamu. *Aktivitas Enzim Bromelin Dari Ekstrak Kulit Nenas (Ananas comosus)*. 200 Jurnal Ilmiah Sains Vol. 11 No. 2, Oktober 2011. (15 Januari 2013).

Lakitan, Benyamin. *Dasar-Dasar Fisiologi Tumbuhan*. Jakarta: PT. Raja Grafindo Persada, 2007.

Lehninger, Albert. L. *Dasar – Dasar Biokimia* Jilid 1. Penerjemah: Maggy Thenawijaya. Jakarta: Erlangga, 2009.

Linder, Maria C. *Biokimia Nutrisi dan Metabolisme*. Penerjemah: Aminuddin Parakkasi. Cet 1. Jakarta: Universitas Indonesia (UI-Press), 1992.

Miswar, Zhikry F, Sukarmin, dan F. Ihsan. *Teknik Karakterisasi Kuantitatif Beberapa Aksesi Nenas*. Buletin Teknik Pertanian Vol. 17, No. 1, 2012: 10-13. (17 Januari 2013).

Murray, Robert K, Daryl K. Granner dan Victor W. Rodwell. *Biokimia Harper* Edisi 27 ; Alih Bahasa, Brahm U. Pendit: editor edisi bahasa Indonesia, Nanda Wulandari, et al., eds. Jakarta: EGC, 2009.

Nasution, Muhammad Arif. *Analisis Korelasi Dan Sidik Lintas Antara Karakter Morfologi Dan Komponen Buah Tanaman Nenas (Ananas comosus L. Merr.)*. Crop Agro Vol.3 No.1 – Januari 2010. (17 Januari 2013).

Nielsen, J. E., Beier, L., Otzen., D., Borchert, T. V., Frantzen, H. B., Andersen, K. V., Svendsen, A., *Electrostatics in in the active site of an α -amylase*. (1999). (10 Mei 2013).

Pawignya, Harsa. *Pembuatan Protein Sel Tunggal dari Limbah Nanas dengan Proses Fermentasi*. Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia “Kejuangan” Pengembangan Teknologi Kimia untuk Pengolahan Sumber Daya Alam Indonesia. Yogyakarta, 22 Februari 2011. ISSN 1693 – 4393. (15 Januari 2013).

Pelczar, Michael J. dan Chan. Dasar-Dasar Mikrobiologi. Penerjemah: Ratna Siri Hadioetomo. Cet 1. Jakarta: Universitas Indonesia (UI-Press), 1986.

Putra, Deddi Prima dan Vewawati. *Analisa Kandungan Flavonoid Dan Aktivitas Antioksidan Dari Rempah Tumbuhan Obat Sumatera Barat*. SCIENTIA VOL. 1 No. 1, Februari 2011. ISSN : 2087-5045. (17 Januari 2013).

Robinson, Treyor. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Penerjemah: Kasasih Padmawinata. Bandung: ITB, 1995.

Sadikin, Moh, H. *Biokimia Enzim*. Jakarta: Widya Medika, 2002.

Santoso. *Enzimologi*. Semarang, 2010.

Scientia. *Jurnal Farmasi dan Kesehatan*. VOL. 1 No. 1, Februari 2011. ISSN : 2087-5045. Padang: Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia (STIFI). (18 Januari 2013).

Setyawati, Iriana dan Dwi ariani Yulihastuti. *Penampilan Reproduksi dan Perkembangan Skeleton Fetus Mencit Setelah Pemberian Ekstrak Buah Nanas Muda*. Jurnal Veteriner September 2011. Vol. 12 No. 3: 192-199. ISSN : 1411 – 8327. (15 Januari 2013).

Shihab M. Quraish. *Tafsir Al-Mishbah: Pesan, Kesan dan Keserasian Al-Quran* volume 7 dan 10. Jakarta: Lentera Hati, 2002.

Soares, Paulo *et al.*, *Studies on Bromelain Precipitation by Ethanol, Poly (Ethylene Glycol) and Ammonium Sulphate*. Brazil: Universidade de São Paulo, 2010. <http://www.method-of-bromelai-extraction.pdf>. (19 Mei 2013).

Steenis, Van. *Flora*. Penerjemah: Moesa Surjowinato dkk. Jakarta: Pradnya Paramita, 1998.

Sumeru, Ashari. *Hortikultura Aspek Budaya*. Jakarta: UI Press, 1995.

Thabib. *Manfaat nenas untuk kesehatan*. *Suara Merdeka*. <http://bismillahku.blogspot.com/2011/07/aneka-manfaat-dan-khasiatnanas-bagi.html>. (25 Januari 2013).

Tjitrosoepomo, Gembong. *Morfologi Tumbuhan*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press, 2009.

Utami, Dhiah Putri, Pudjomartatmo dan Adi Magna Patriadi Nuhriawangsa. *Manfaat Bromelin dari Ekstrak Buah Nanas (Ananas comosus L. Merr)*

dan Waktu Pemasakan untuk Meningkatkan Kualitas Daging Itik Afkir.
Sains Peternakan Vol. 9 (2), September 2011: 82-87. ISSN 1693-8828. (11 Januari 2013).

Wirahadikusumah, Muhammad. *Biokimia Protein, Enzim dan Asam Nukleat.*
Bandung: ITB, 1977.

Wuryanti. *Amobilisasi Enzim Bromelin Dari Bonggol Nanas Dengan Bahan Pendukung (Support) Karagenan Dari Rumput Laut (Euchema Cottonii).*
JSKA.Vol.IX.No.3.Tahun.2006. (15 Januari 2013).

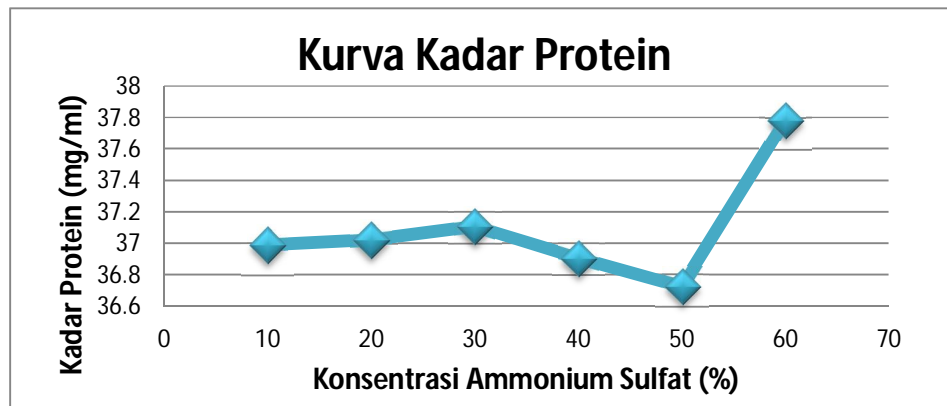
Wuryanti. *Isolasi Dan Penentuan Aktivitas Spesifik Enzim Bromelin Dari Buah Nanas (Ananas Comosus L.).* No. Artikel: JKSA. Vol. VII. No.3 Desember 2004. (11 Januari 2013).

LAMPIRAN

1. Pengukuran Kadar Protein Enzim Bromelin pada Variasi Konsentrasi

Ammonium Sulfat

No	Konsentrasi (%)	Ulangan I (nm)	Ulangan II (nm)	Ulangan III (nm)	Jumlah (nm)	Rata-rata (nm)
1	10	0,056	0,059	0,046	0,161	0,053667
2	20	0,051	0,047	0,041	0,139	0,046333
3	30	0,043	0,045	0,05	0,138	0,046
4	40	0,04	0,045	0,045	0,13	0,043333
5	50	0,053	0,051	0,051	0,155	0,051667
6	60	0,5	0,038	0,047	0,585	0,195

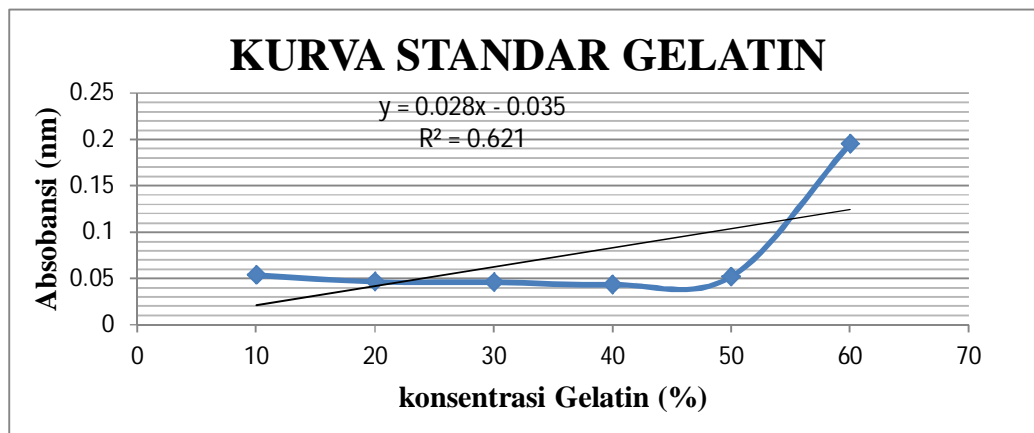


Kurva Standar Gelatin

No	Konsentrasi	Ulangan I	Ulangan II	Ulangan III	Jumlah	Rata-rata
1	10	0,56	0,059	0,046	0,665	0,221666667
2	20	0,051	0,047	0,041	0,139	0,046333333
3	30	0,043	0,045	0,05	0,138	0,046
4	40	0,04	0,045	0,045	0,13	0,043333333
5	50	0,053	0,051	0,051	0,155	0,051666667
6	60	0,5	0,038	0,047	0,585	0,195

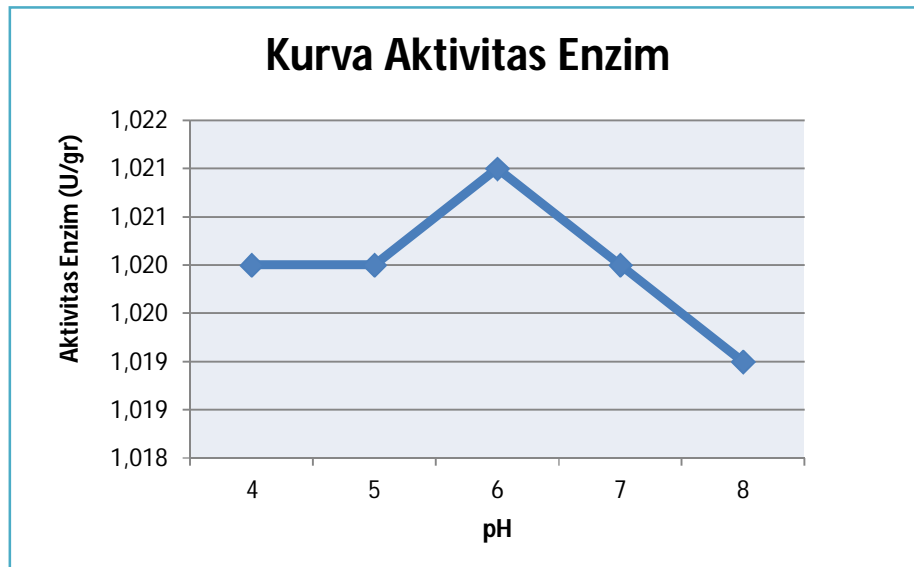
X	Y
Konsentrasi	Absorbansi
10	0,053667

20	0.046333
30	0.046
40	0.043333
50	0.051667
60	0.195



2. Hubungan Antara pH Inkubasi Terhadap Aktivitas Ekstrak Kasar Enzim Bromelin

pH	U I (nm)	U II (nm)	U III (nm)	Rata-rata (nm)	Substrat terhidrolisis (mg/ml)	Aktivitas Enzim (U/gr)
4	1,000	1,001	0,999	1	36,964	1,020
5	1,007	0,996	0,998	10,003,333	36,976	1,020
6	1,004	1,000	1,000	10,013,333	37,011	1,021
7	1,003	1,000	0,999	10,006,667	36,988	1,020
8	1,000	0,999	0,999	0,9993333	36,940	1,019



PENGOLAHAN DATA

Kurva standar gelatin

➤ Konsentrasi 10%

$$y = 1,000667$$

$$y = 0,028x - 0,035$$

$$1,000667 = 0,028x - 0,035$$

$$x = 1,035667 / 0,028$$

$$= 36,9881071 \text{ mg/ml}$$

➤ Konsentrasi 20%

$$y = 1,001667$$

$$y = 0,028x - 0,035$$

$$1,001667 = 0,028x - 0,035$$

$$x = 1,036667 / 0,028$$

$$= 37,0238213 \text{ mg/ml}$$

$$y = 0.028x - 0,035$$

$$R^2 = 0.621$$

➤ Konsentrasi 30%

$$y = 1.004$$

$$y = 0,028x - 0,035$$

$$1.004 = 0,028x - 0,035$$

$$x = 1,039 / 0,028$$

$$= 37,1071429 \text{ mg/ml}$$

➤ Konsentrasi 40%

$$y = 0,998333$$

$$y = 0,028x - 0,035$$

$$0,998333 = 0,028x - 0,035$$

$$x = 1,033333 / 0,028$$

$$= 36,90475 \text{ mg /ml}$$

➤ Konsentrasi 50%

$$y = 0,993333$$

$$y = 0,028x - 0,035$$

$$0,993333 = 0,028x - 0,035$$

$$x = 1,028333 / 0,028$$

$$= 36,7261786 \text{ mg/ml}$$

➤ Konsentrasi 60%

$$y = 1.023$$

$$y = 0,028x - 0,035$$

$$1.023 = 0,028x - 0,035$$

$$x = 1,058 / 0,028$$

$$= 37,7857143 \text{ mg/ml}$$

**Perhitungan Substrat Terhidrolisis Uji Aktivitas Ekstrak Kasar Enzim
Bromelin**

❖ pH 4

$$y = 1$$

$$y = 0,028x - 0,035$$

$$1 = 0,028x - 0,035$$

$$x = 1,035 / 0,028$$

$$= 36,9642857 \text{ mg/ml}$$

❖ pH 5

$$y = 1,0003333$$

$$y = 0,028x - 0,035$$

$$1,0003333 = 0,028x - 0,035$$

$$x = 1,0353333 / 0,028$$

$$= 36,9761893 \text{ mg/ml}$$

❖ pH 6

$$y = 1,0013333$$

$$y = 0,028x - 0,035$$

$$1,0013333 = 0,028x - 0,035$$

$$x = 1,0363333 / 0,028$$

$$= 37,0119036 \text{ mg/ml}$$

❖ pH 7

$$y = 1,0006667$$

$$y = 0,028x - 0,035$$

$$1,0006667 = 0,028x - 0,035$$

$$x = 1,0356667 / 0,028$$

$$= 36,9880964 \text{ mg/ml}$$

❖ pH 8

$$y = 0,9993333$$

$$y = 0,028x - 0,035$$

$$0,9993333 = 0,028x - 0,035$$

$$x = 1,0343333 / 0,028$$

$$= 36,940475 \text{ mg/ml}$$

Perhitungan Aktivitas Enzim Pada Uji Aktivitas Ekstrak Kasar Enzim Bromelin

Rumus :

$$\text{Aktivitas Enzim} = \text{Substrat Terhidrolisis} \times \frac{1}{\text{BM Enzim}} \times \frac{\text{Volume Larutan}}{\text{Berat Enzim}}$$

Dimana :

$$\text{BM Enzim} = 181.19 \text{ g/mol}$$

$$\text{Volume Larutan} = 0,625 \text{ ml}$$

$$\text{Berat Enzim} = 0,125 \text{ g}$$

Berat enzim didapatkan dengan cara sebagai berikut:

1. Mengeringkan enzim bromelin dari ekstrak kasar batang nanas di oven pada suhu 50° selama 15 menit.
2. Setelah pengeringan enzim bromelin dari ekstrak kasar ditimbang sebanyak 1,25 pada masing-masing sampel pH.

➤ pH 4 = 36,9642857 mg/ml

$$\begin{aligned} \text{Aktivitas Enzim} &= 36,9642857 \times \frac{1}{181,19} \times \frac{0,625}{0,125} \\ &= 23,1026786 / 22,64875 \\ &= 1,020 \text{ U/g} \end{aligned}$$

➤ pH 5 = 36,9761893 mg/ml

$$\begin{aligned} \text{Aktivitas Enzim} &= 36,9761893 \times \frac{1}{181,19} \times \frac{0,625}{0,125} \\ &= 23,1101183 / 22,64875 \end{aligned}$$

$$= 1,020 \text{ U/g}$$

➤ pH 6 = 37,0119036 mg/ml

$$\text{Aktivitas Enzim} = 37,0119036 \times \frac{1}{181,19} \times \frac{0,625}{0,125}$$

$$= 23,1324397 / 22,64875$$

$$= 1,021 \text{ U/g}$$

➤ pH 7 = 36,9880964 mg/ml

$$\text{Aktivitas Enzim} = 36,9880964 \times \frac{1}{181,19} \times \frac{0,625}{0,125}$$

$$= 23,1175603 / 22,64875$$

$$= 1,020 \text{ U/g}$$

➤ pH 8 = 36,940475 mg/ml

$$\text{Aktivitas Enzim} = 36,940475 \times \frac{1}{181,19} \times \frac{0,625}{0,125}$$

$$= 23,0877969 / 22,64875$$

$$= 1,019 \text{ U/g}$$



DAFTAR RIWAYAT HIDUP

Nurhidayah. Lahir di desa Ntoke Kecamatan Wera Kabupaten Bima pada tanggal 15 November 1991. Anak ke-6 dari 6 bersaudara pasangan Ibrahim A. Thalib dan St. Hawasah. Penulis mulai memasuki jenjang pendidikan formal dari MI Ntoke pada tahun 1997 dan tamat pada tahun 2003. Selanjutnya memasuki jenjang sekolah menengah pertama pada tahun 2003 di SMPN 2 Wera (SMPN 25 Bima) dan tamat pada tahun 2006. Kemudian memasuki jenjang sekolah MAN 1 Kota Bima pada tahun 2006 dan tamat pada tahun 2009. Pada tahun yang sama melalui jalur UML (Ujian Masuk Lokal) penulis terdaftar sebagai mahasiswa Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar program strata satu (S1). Selama menjadi mahasiswa penulis pernah menjadi Asisten Laboratorium Biologi pada tahun ajaran 2010-2013. Adapun organisasi yang pernah dimasuki penulis adalah Himpunan Mahasiswa Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi.